

**POTENSI TERAPI EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum gratissimum* L.) TERHADAP MENCIT MODEL
GLOMERULONEFRITIS AKUT HASIL INDUKSI
STREPTOKINASE BERDASARKAN KADAR
MDA GINJAL DAN HISTOPATOLOGI LIMPA**

SKRIPSI

Oleh
MUHAMMAD RIZKI RAMADHANI
115130101111045



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**POTENSI TERAPI EKSTRAK ETANOL DAUN KEMANGI
(*Ocimum gratissimum* L.) TERHADAP MENCIT MODEL
GLOMERULONEFRITIS AKUT HASIL INDUKSI
STREPTOKINASE BERDASARKAN KADAR
MDA GINJAL DAN HISTOPATOLOGI LIMPA**

Oleh:

MUHAMMAD RIZKI RAMADHANI

NIM. 115130101111045

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 10 Januari 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, Drh., MS

NIP. 19480615 197702 2 001

Drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech

NIP. 19870501 201504 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pendidikan Dokter Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

IDENTITAS TIM PENGUJI

Judul Skripsi : Potensi Terapi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) terhadap Mencit Model Glomerulonefritis Akut Hasil Induksi Streptokinase berdasarkan Kadar MDA Ginjal dan Histopatologi Limpa

Nama Mahasiswa : Muhammad Rizki Ramadhani

NIM : 115130101111045

Program Studi : Kedokteran Hewan

TIM PEMBIMBING

Pembimbing 1 : Prof. Dr. Pratiwi Trisunuwati, Drh., MS

Pembimbing 2 : drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech

TIM PENGUJI

Penguji 1 : drh. Dahliatul Qosimah, M.Kes

Penguji 1 : drh. Aldila Noviatry, M. Biomed

Tanggal Ujian : 10 Januari 2018

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Rizki Ramadhani
NIM : 115130101111045
Program Studi : Kedokteran Hewan
Penulis Skripsi berjudul : Potensi Terapi Ekstrak Etanol Daun Kemangi
(*Ocimum gratissimum L.*) terhadap Mencit Model
Glomerulonefritis Akut Hasil Induksi
Streptokinase berdasarkan Kadar MDA Ginjal dan
Histopatologi Limpa

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 10 Januari 2018
Yang menyatakan,

(Muhammad Rizki Ramadhani)
NIM. 115130101111045

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Muhammad Rizki Ramadhani
NIM : 115130101111045
Tempat, Tanggal Lahir : Jombang, 8 Maret 1993
Agama : Islam
Alamat : Jl. Brantas RT:01 RW: 03 Penanggalan Dukuhdimoro
Mojoagung, Jombang - Jawa Timur
Jenis Kelamin : Laki - laki
Alamat Email : rizki.vet@gmail.com
Riwayat Pendidikan : 1. SDN Mojotrisno 1 (1999 – 2005)
2. SMPN 3 Peterongan (2005 – 2008)
3. SMAN Mojoagung (2008 – 2011)
Riwayat Organisasi : 1. Pengurus Ikatan Minat Profesi Ternak Besar
2. Anggota Ikatan Minat Profesi

**Potensi Terapi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum gratissimum* L.)
Terhadap Mencit Model Glomerulonefritis Akut Hasil Induksi
Streptokinase Berdasarkan Kadar MDA Ginjal
dan Histopatologi Limpa**

ABSTRAK

Glomerulonefritis akut salah satu penyakit disebabkan kompleks imun ditandai inflamasi glomerulus. Aktivasi komplemen dari kompleks imun menyebabkan peningkatan radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif. MDA merupakan hasil peroksidasi lipid akibat radikal bebas. Limpa merupakan salah satu organ pertahanan tubuh yang peran dalam proses penyembuhan pada sistemik inflamasi pada GNA. Salah satu terapi GNA adalah antiinflamasi dan antioksidan. Daun kemangi memiliki kandungan flavonoid, eugenol dan tanin sebagai antiinflamasi dan antioksidan. Penelitian bertujuan mengetahui kadar MDA serta perubahan histopatologi limpa mencit model GNA hasil induksi streptokinase yang diterapi ekstrak daun kemangi. Penelitian eksperimen ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan *post test control design only*. Menggunakan mencit jantan 6-8 minggu, berat 20-25 gram, dibagi 5 kelompok perlakuan. Kontrol negatif, kontrol positif diinduksi streptokinase dosis 2500 IU serta kelompok terapi dosis 400, 800 dan 1200 mg/kg BB. Pemeriksaan kadar MDA ginjal dengan Spektrofotometer dan histopatologi limpa dengan pewarnaan HE. Kadar MDA dianalisa secara kuantitatif dengan *One Way ANOVA* ($\alpha=0,05$) serta analisa deskriptif untuk histopatologi limpa. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun kemangi dosis 400 mg/kg BB dapat menurunkan kadar MDA ginjal secara signifikan ($p<0,05$) dan dapat menurunkan infiltrasi giant cell serta menurunkan tingkat kerusakan organ limpa. Kesimpulan dari penelitian ini pemberian ekstrak etanol daun kemangi dapat digunakan sebagai terapi GNA.

Kata kunci: Glomerulonefritis akut, Kemangi, Histopatologi Limpa, MDA Ginjal, Streptokinase.

**Ethanol Extracts Therapy of Basil leaves (*Ocimum gratissimum* L.)
Against Mice Model of Acute glomerulonephritis Induced
Streptokinase Based on MDA Kidney Levels
and Spleen Histopathology**

ABSTRACT

Acute glomerulonephritis is one of diseases caused immune complex marked by glomerular inflammation. Complement activation of the immune complex causes an increase in free radicals that cause oxidative stress. MDA is the result of lipid peroxidation due to free radicals. The spleen is one of the body's defense organs that plays a role in the process of healing the systemic inflammation in GNA. One of the GNA therapies is anti-inflammatory and antioxidant. Basil leaves contain flavonoids, eugenol and tannins as anti-inflammatory and antioxidants. The aim of this research was to know the level of MDA and histopathologic changes of spleen mice of GNA model of induction of streptokinase treated by basil leaf extract. This experimental study used a Completely Randomized Design with post test control design only. Using male mice 6-8 weeks, weight 20-25 grams, divided by 5 treatment groups. Negative control, positive control induced streptokinase dose 2500 IU and dose therapy group 400, 800 and 1200 mg / kg BW. Examination of MDA levels of the kidney with Spectrophotometer and histopathology of the spleen by HE staining. MDA levels were analyzed quantitatively with One Way ANOVA ($\alpha = 0.05$) and descriptive analysis for histopathology of the spleen. The results showed that basil leaves ethanol extract of 400 mg / kg BW could significantly decrease the MDA level of kidneys ($p < 0.05$) and can decrease giant cell infiltration and decrease lymph organ damage rate. The conclusion of this research giving the extract of basil leaf ethanol can be used as GNA therapy.

Keywords: acute glomerulonephritis, basil, Histopathology Spleen, Kidney MDA, streptokinase.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat, rahmat serta kasih–Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul “Potensi Terapi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum gratissimum* L.) Terhadap Mencit Model Glomerulonefritis Akut Hasil Induksi Streptokinase Berdasarkan Kadar MDA Ginjal dan Histopatologi Limpa”.

Penulisan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan. Penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis dengan segala kerendahan hati dan penuh rasa hormat mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada semua pihak yang telah memberikan bantuan moril maupun materil secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini hingga selesai. Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Pratwi Trisunuwati, Drh., MS selaku dosen pembimbing satu dan Dr. Sri Murwani, drh, MP serta drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech selaku dosen pembimbing dua yang senantiasa sabar dalam memberikan bimbingan maupun arahan yang sangat berguna dalam penyusunan skripsi serta waktunya demi terselesainya skripsi ini
2. Drh. Dahliatul Qosimah, M. Kes dan Drh. Aldila Noviatry, M. Biomed selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu dan memberi masukan serta sarannya demi penyempurnaan skripsi ini
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan tiada henti demi kemajuan FKH tercinta
4. Drh. Fajar Shodiq Permata, M. Biotech selaku Ketua Program Studi Kedokteran Hewan yang selalu memberikan dukungan demi kemajuan akademik
5. Keluarga tercinta terutama untuk orang tua yang telah begitu tulus memberikan semangat, dorongan dan doa yang bermanfaat bagi penulis.

6. Keluarga Bebeluck yang telah banyak membantu penulis dan memberikan dukungan dalam menyusun skripsi ini
7. Semua pihak yang telah membantu terselesainya skripsi ini yang tidak dapat penulis sebut satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini berguna untuk menambah pengetahuan bagi penulis dan pembaca.

Malang, 10 Januari 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
IDENTITAS TIM PENGUJI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
BA B 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan Penelitian	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Glomerulonefritis Akut (GNA).....	7
2.1.1 Pengertian	7
2.1.2 Patofisiologi	7
2.1.3 Diagnosa	9
2.1.4 Terapi	11
2.2 Mencit (<i>Mus musculus L.</i>).....	12
2.3 Streptokinase.....	13
2.4 Malondialdehyde (MDA).....	15
2.5 Limpa	17
2.6 Giant cell	19
2.7 Daun Kemangi (<i>Ocimum gratissimum L.</i>).....	20
2.7.1 Klasifikasi	20
2.7.2 Deskripsi	21
2.7.3 Kandungan Kimia.....	22
2.7.3.1 Flavonoid	23
2.7.3.2 Tanin	25
2.7.3.3 Eugenol	26
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	27
3.1 Kerangka Konsep.....	27

3.2 Hipotesis Penelitian	30
BAB 4. METODE PENELITIAN	31
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	31
4.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	31
4.2.1 Alat.....	31
4.2.2 Bahan	32
4.3 Tahapan Penelitian.....	33
4.4 Prosedur Kerja	33
4.4.1 Persiapan Hewan Coba.....	33
4.4.2 Rancangan Penelitian	34
4.4.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kemangi	35
4.4.4 Pembuatan Hewan Model Glomerulonefritis akut.....	36
4.4.4.1 Preparasi Streptokinase.....	36
4.4.4.2 Induksi Streptokinase pada Hewan Coba	37
4.4.5 Pemberian Terapi Ekstrak Etanol Daun Kemangi	38
4.4.6 Pengambilan Organ Ginjal dan Limpa.....	39
4.4.7 Penghitungan Kadar MDA.....	39
4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Limpa.....	40
4.4.9 Analisa Data	42
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	43
5.1 Pembuatan Hewan Model Glomerulonefritis Akut Berdasarkan Kadar Blood Urea Nitrogen (BUN) dan kreatinin	43
5.2 Terapi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum gratissimum L.) Terhadap Kadar Malondialdehyde Ginjal (MDA) Mencit Model Glomerulonefritis Akut (GNA).....	44
5.3 Histopatologi Organ Limpa Mencit Model Glomerulonefritis Akut (GNA) Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (Ocimum Gratissimum L.).....	50
BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN	60
6.1 Kesimpulan	60
6.2 Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	69

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.1 pemeriksaan BUN dan Kreatinin serum pasca induksi streptokinase.....	43
5.2 Persentase Perubahan Kadar Malondialdehyde (MDA) Ginjal	45
5.3 Persentase Perubahan Rataan Jumlah infiltrasi giant cell	50



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Proses terjadinya jejas renal pada GNAPS	9
2.2 Mus musculus L	13
2.3 Struktur kimia Streptokinase	14
2.4 Reaksi terbentuknya (MDA)	16
2.5 Pulpa merah dan pulpa putih dari Limpa pewarnaan Mallory	18
2.6 Giant cell	20
2.7 Tanaman Kemangi (<i>Ocimum gratissimum L.</i>)	22
2.8 Stuktur kimia flavonoid	24
2.9 Struktut kimia tanin	25
3.0 Stuktur kimia eugenol	26
3.1 Kerangka Konseptual	27
5.1 Antioksidan Bertindak Sebagai Prooksidan Pada Konsentrasi Tinggi	49
5.2 Histopatologi limpa kontrol negatif perbesaran 320x	51
5.3 Histopatologi limpa kontrol positif perbesaran 320x	51
5.4 Histopatologi limpa terapi 1 perbesaran 320x	52
5.5 Histopatologi limpa terapi 2 perbesaran 320x	52
5.6 Histopatologi limpa terapi 3 perbesaran 320x	53

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Terdapat sebuah studi yang menyatakan bahwa dari 76 anjing dengan penyakit ginjal kronis, 52 persen teridentifikasi memiliki gangguan pada glomerulusnya daripada non-glomerulus sebagai proses patologis yang mendasari (MacDougall *et.al.*, 2008). Hal ini diperkuat dengan adanya penelitian lanjutan dimana telah menunjukkan prevalensi penyakit glomerulus pada anjing yang dipilih secara acak sebesar 70 persen (Rouse and Lewis 2005). Dari banyaknya penyakit glomerulonefritis anjing diduga terkait dengan adanya kompleks imun di dinding kapiler glomerulus (Cook and Cowgill, 2000). Hal tersebut sama seperti yang dilaporkan oleh Maxie and Newman (2007) bahwa sebagian besar kucing yang mengalami glomerulonefritis sampai saat ini berasal dari kompleks imun.

Glomerulonefritis adalah suatu terminologi umum yang menggambarkan adanya inflamasi pada glomerulus, ditandai oleh proliferasi sel-sel glomerulus (Noer, 2002). Kejadian Glomerulonefritis Akut pernah dilaporkan terjadi pada anjing ras Rottweilers, Bernese Mountain Dogs, Soft-coated Wheaten Terriers, Samoyeds, English Springer Spaniels, Greyhounds, Poodles, Doberman Pinschers, Shih Tzu, dan English Cocker Spaniels (Brown, 2013).

Streptokinase adalah protein yang disekresikan oleh Bakteri streptokokus, terlibat dalam penyebaran bakteri dalam jaringan karena

mempunyai kemampuan memecah plasminogen menjadi plasmin (David *et.al.*, 2008). Pembuatan hewan model Glomerulonefritis akut (GNA) dapat dilakukan dengan induksi streptokinase (Murwani dkk, 2014). Streptokinase sebagai antigen akan diikat oleh antibodi tubuh dan akan mengendap pada glomerulus ginjal (Nordstrand *et.al.*, 1998). Hal ini diperkuat oleh lanjutan penelitian Nordstrand *et.al* (2000) bahwa peran streptokinase dalam patogenesis APSGN (*Acute Post-Streptococcal Glomerulonefritis*) telah didukung oleh penggunaan model tikus dan turunannya strain NZ131 memungkinkan adanya deposisi Komplemen C3a dan C5a yang teraktivasi karena adanya kompleks imun pada glomerulus.

Indonesia adalah negara yang kaya akan sumber daya dan hasil alam. Salah satu sumber daya alam yang belum dimanfaatkan secara optimal adalah kemangi. Kemangi yang berasal dari spesies *Ocimum gratissimum* tidak asing lagi bagi kita dan sering kita jumpai dalam kehidupan sehari-hari. Menurut Prabhu *et al* (2009) dalam studi farmakologi daun kemangi memiliki beberapa fungsi seperti *antimicrobial and antifungal activity*, *antidiarrhoeal*, *anti-inflammatory*, dan *analgesic activity*. Daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) memiliki kandungan utama yang bersifat antioksidan dan antiinflamasi yaitu eugenol, flavonoid, asam askorbat, asam palmitat, tannin, saponin, β - karoten dan β - sitosterol (Mishra *et al.*, 2007).

Pemilihan etanol sebagai pelarut pada ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) ini sebelumnya telah digunakan dalam beberapa penelitian daun kemangi terhadap aktivitas antiinflamasi dan antioksidan oleh

Rameshrad *et.al* (2015), Sangeetha and Poornamathy (2015), Basak *et.al* (2014) and Kapewangolo *et.al* (2015). Pelarut etanol ini mempunyai kelarutan yang relatif tinggi, etanol memiliki titik didih yang rendah. Etanol dipilih sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut yang bersifat polar, yang artinya dapat melarutkan senyawa polar dan etanol bisa bercampur dengan air yang juga bersifat polar (Marks *et.al.*, 2000).

Peningkatan stres oksidatif adalah salah satu mekanisme patogen paling penting yang terlibat dalam berkembangnya glomerulonefritis (Tatjana *at.al.*, 2007). Stres oksidatif disebabkan salah satunya dari peningkatan radikal bebas. Mekanisme kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan terbanyak diteliti adalah peroksidasi lipid (Powers and Jackson, 2008). Sehingga *Malondialdehyde* (MDA) yang merupakan senyawa dialdehida yang menjadi produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh dapat diketahui sebagai marker biologis.

Kasus glomerulonefritis akut ditandai dengan peningkatan sitokin pro-inflamasi, aktivator kaskade komplemen disamping juga neutrofil merupakan salah satu contoh dari respon inflamasi sistemik. Respon yang berlebih ini dapat menjadikan salah satu penyebab dari kerusakan endotel dan berakibat kerusakan organ. Salah satu organ yang mengalami kerusakan yaitu limpa, karena limpa memiliki fungsi sebagai pertahanan tubuh. Menurut Baratawidjaja dan Rengganis (2010) dalam keadaan normal, kompleks imun dalam sirkulasi akan diikat dan diangkut oleh eritrosit ke hati, limpa dan dimusnahkan oleh sel fagosit, terutama di hati, limpa dan paru. Adanya

endapan kompleks imun pada organ spesifik dan jaringan tertentu dapat menimbulkan agregasi trombosit, aktivasi makrofag, perubahan permeabilitas vaskular, aktivasi sel mast, produksi dan pelepasan mediator inflamasi dan bahan kemotaktik serta influks neutrofil (Hahn, 2005). Berdasarkan data tersebut maka kadar Malondialdehida (MDA) dan gambaran histopatologi organ limpa mencit model GNA perlu diketahui dalam penelitian ini.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah yang diselesaikan adalah :

1. Apakah pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) sebagai terapi pada mencit model GNA dapat menurunkan kadar *Malondialdehida* (MDA) ginjal?
2. Bagaimana histopatologi organ limpa mencit model GNA setelah pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*)?

1.3 Batasan masalah

Batasan dari penelitian ini adalah :

1. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan dewasa dengan umur 6-8 minggu dengan berat badan 20-25 gram (Kusumawati, 2004). Mencit diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan telah mendapat surat keterangan sehat dari Dinas Peternakan dan Kesehatan Hewan Kabupaten Malang nomor: 518.11/402/421.118/2014.

Penggunaan hewan coba dalam penelitian ini telah mendapatkan sertifikat layak etik oleh Tim Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya nomor: 328-KEP-UB.

2. Keadaan glomerulonefritis akut pada hewan model dibuat dengan pemberian streptokinase. Streptokinase yang digunakan didapat dari Rumah Sakit Saiful Anwar, Malang yang diinduksikan secara intramuskular sebanyak 2500 IU/ ekor (Murwani dkk, 2014). pada hari ke 8 dan hari ke 12. Interval pemberian induksi pertama dan kedua berselang 4 hari (Beacon pharmaceuticals, 2009).
3. Tanaman kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) yang didapatkan telah mendapat sertifikat determinasi dari Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang dengan nomor: 0150/Takso.Identifikasi/03/2014.
4. Dosis terapi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) yaitu dosis 400 mg/kg BB pada kelompok terapi 1, dosis 800 mg/kg BB pada kelompok terapi 2 dan dosis 1200 mg/kg BB pada kelompok terapi 3 selama 14 hari yang diberikan secara peroral 1 kali sehari (Gautam and Goel, 2014).
5. Variabel penelitian kadar MDA diukur dengan metode spektrofotometri
6. Variabel gambaran histopatologi limpa diamati dengan melihat infiltrasi giant cell dan kerusakan sel-sel limpa.

1.4 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) terhadap mencit model GNA berdasarkan kadar Malondialdehida (MDA) ginjal.
2. Untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) terhadap mencit model GNA berdasarkan gambaran histopatologi limpa.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Manfaat teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang terapi ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) terhadap mencit (*Mus musculus*) model Glomerulonefritis Akut hasil induksi streptokinase berdasarkan kadar MDA ginjal dan histopatologi limpa.

2. Manfaat aplikatif

Memberikan informasi tentang penggunaan terapi ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) sebagai referensi atau acuan dalam penelitian selanjutnya terhadap penyakit lainnya.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Glomerulonefritis Akut (GNA)

2.1.1 Pengertian

Glomerulonefritis adalah suatu terminologi umum yang menggambarkan adanya inflamasi pada glomerulus, ditandai oleh proliferasi sel-sel glomerulus akibat proses imunologi. Glomerulonefritis terbagi atas akut dan kronis. Glomerulonefritis merupakan penyebab utama terjadinya gagal ginjal tahap akhir dan tingginya angka morbiditas individu muda ataupun dewasa (Noer, 2002).

Menurut Nelson, (2000) glomerulonefritis merupakan suatu istilah yang dipakai untuk menjelaskan berbagai jenis penyakit ginjal yang mengalami proliferasi dan inflamasi glomerulus yang disebabkan oleh suatu mekanisme imunologis. Sedangkan istilah akut (glomerulonefritis akut) mencerminkan adanya korelasi klinik selain menunjukkan adanya gambaran etiologi, patogenesis, perjalanan penyakit dan prognosis.

2.1.2 Patofisiologi

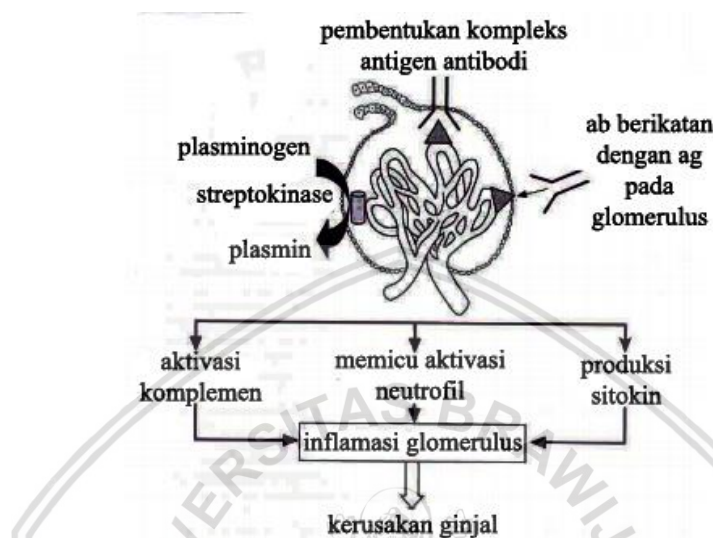
Menurut Mayer, dkk (2011), glomerulonefritis akut terjadi karena terjadi reaksi ikatan antara antigen dan antibodi di dalam membran kapiler glomerulus sesudah terjadinya infeksi oleh bakteri *streptococcus beta – hemolyticus* group A. Patofisiologi dari glomerulonefritis akut merupakan reaksi hipersensitivitas tipe III (Subowo, 2010). Streptokinase adalah protein yang disekresikan oleh Bakteri streptokokus, terlibat dalam

penyebaran bakteri dalam jaringan karena mempunyai kemampuan memecah plasminogen menjadi plasmin (David *et.al.*, 2008).

Streptokinase sebagai antigen akan diikat oleh antibodi tubuh dan akan mengendap pada glomerulus ginjal (Nordstrand *et.al.*, 1998). Hal ini diperkuat oleh lanjutan penelitian Nordstrand *et.al* (2000) bahwa peran streptokinase dalam patogenesis APSGN (*Acute Post-Streptococcal Glomerulonefritis*) telah didukung oleh penggunaan model tikus dan turunannya strain NZ131 memungkinkan adanya deposisi komplemen C3a dan C5a yang teraktivasi karena adanya kompleks imun pada glomerulus. Streptokinase yang masuk akan mengendap pada glomerulus ginjal. Kemudian akan diikat oleh antibodi sehingga membentuk kompleks antigen antibodi. Terbentuknya plasmin sebagai akibat pemecahan plasminogen oleh streptokinase yang akan mengaktivasi reaksi kaskade komplemen. Adanya ikatan antigen antibodi pada jaringan akan menimbulkan reaksi hipersensitivitas tipe III. Maka imunitas tubuh akan merespon dengan adanya aktivasi komplemen C3a dan C5a, influks neutrofil serta sitokin akan diproduksi. Ilustrasi proses terdapat pada gambar 2.1.

Komplek antigen antibodi ini mengaktifkan mediator biokimiawi inflamasi seperti komplemen, leukosit dan fibrin. Komplemen yang diaktifkan akan menarik sel-sel neutrofil serta monosit untuk memakan kompleks imun dan bersama dengan trombosit yang digumpalkan melepas berbagai bahan seperti protease, kolagenase dan bahan vasoaktif sehingga

terjadi perdarahan dan nekrosis jaringan setempat sehingga meningkatkan permeabilitas membran glomerulus dan menimbulkan adanya inflamasi (Pardede, 2009).



Gambar 2.1 Proses terjadinya jejas renal pada GNAPS (Smith, 2003).

Dari patomekanisme tersebut gejala klinis yang sering ditemukan berupa hematuria, kadang dijumpai edema pada daerah sekitar mata atau seluruh tubuh. Gambaran GNAPS yang paling sering ditemukan adalah hematuria, oligouria, edema dan hipertensi. Gejala – gejala umum yang berkaitan dengan permulaan penyakit seperti rasa lelah, anoreksia, demam, mual, muntah dan sakit kepala (Noer, 2002).

2.1.3 Diagnosa

Penegakan diagnosa dapat dilakukan dengan mengetahui anamnesa hewan seperti dari gejala klinis serta beberapa jenis pemeriksaan penunjang.

1. Gejala klinis yang tampak dari hewan yang mengalami glomerulonefritis seperti sakit didaerah punggung hewan, hematuria,

proteinuria, hypertension, edema pada wajah, telapak kaki serta abdomen, hewan lemah, anoreksia dan muntah.

2. Pemeriksaan urinalisis, pemeriksaan urin rutin ditemukan hematuri mikroskopis ataupun makroskopis (*gross*), proteinuria dan proteinuri biasanya sesuai dengan derajat hematuri. Pemeriksaan mikroskopis sedimen urin ditemukan Eritrosit dismorfik dan kas eritrosit, kas granular dan hialin (merupakan tanda karakteristik dari lesi glomerulus) serta mungkin juga ditemukan leukosit. Untuk pemeriksaan sedimen urin sebaiknya diperiksa urin segar pagi hari (Smith, 2003).
3. Pemeriksaan darah kadar ureum dan kreatinin serum meningkat dengan tanda gagal ginjal seperti hiperkalemia, asidosis, hiperfosfatemia dan hipokalsemia.
4. Pada USG ginjal terlihat besar dan ukuran ginjal yang biasanya normal. Bila terlihat ginjal yang kecil, mengkerut atau berparut, kemungkinannya adalah penyakit ginjal kronik yang mengalami eksaserbasi akut. Gambaran ginjal pada USG menunjukkan peningkatan echogenisitas yang setara dengan echogenisitas parenkim hepar. Gambaran tersebut tidak spesifik dan dapat ditemukan pada penyakit ginjal lainnya (Smith, 2003).

2.1.4 Terapi

Pengobatan yang ideal untuk glomerulonefritis ditentukan dengan mengidentifikasi adanya infeksi, inflamasi atau penyakit kanker sebagai dasar yang memengaruhi sistem kekebalan tubuh dengan cara membentuk kompleks imun yang terjebak dalam glomeruli (Hilmanto, 2007). Sementara Coppo *et.al* (2004) menyatakan berbagai pengobatan telah dilakukan untuk mengatasi proses peradangan glomerulus pada fase akut, termasuk penggunaan obat mikofenolat mofetil (*MMF*), *rapamycin*, anti-adhesi imun dan anti-molekul ko-stimulasi serta obat anti-inflamasi berupa anti-siklooksigenase-2.

Menurut Brown (2013) beberapa pengobatan umum untuk glomerulonefritis termasuk pada anjing maupun kucing yaitu Obat immunosupresif (mycophenolate, azathioprine, cyclophosphamide, cyclosporine) untuk menekan pembentukan kompleks imun. Antitrombic (aspirin) dengan dosis yang rendah sekitar 2.5-5 mg/kg per hari peroral pada anjing tetapi tidak diberikan untuk kucing untuk mencegah pembekuan pada glomerulus. Enzyme (ACE) inhibitor angiotensin-converting seperti benazepril dan enalapril dengan dosis 0.5 mg/kg, PO, 1 kali/hari pada kucing dan anjing untuk meminimalkan kehilangan protein dalam urin dan membantu mengontrol tekanan darah dan Suplemen asam lemak Omega-3 untuk membantu mengurangi respon inflamasi dan mencegah pembekuan serta diet protein dan fosfor yang tepat.

2.2 Mencit (*Mus musculus L.*)

Mencit merupakan salah satu dari banyak hewan uji coba yang sering digunakan. Mencit biasa digunakan sebagai model untuk melakukan sejumlah analisis penting, seperti penyakit kardiovaskular, penyakit autoimmune, kesalahan metabolisme, kanker, penyakit ginjal, dan penyakit saraf. Mencit digunakan sebagai model dari hewan uji coba dikarenakan ukurannya yang kecil, cepat berkembang biak, masa kehamilan singkat, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, ukuran tubuh relatif kecil dibandingkan jenis hewan percobaan lain, ciri anatomi dan fisiologi yang mudah dikenali, serta harganya yang relatif murah (Hedrich dkk, 2006).

Mencit memiliki variasi genetik yang cukup besar dan struktur organ reproduksi jantan yang hampir sama dengan manusia. Hormon yang berperan dalam sistem reproduksi mencit, juga sama dengan manusia (Smith dan Mangkoewidjojo, 1998). Penggunaan mencit jantan sebagai hewan coba dilakukukan karena kondisi biologisnya lebih stabil bila dibandingkan dengan mencit betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi oleh masa siklus estrus dan hormon yang mempengaruhi (Muliani, 2011).

Mencit tergolong dalam ordo rodentia. Mencit (Gambar 2.2) merupakan mamalia dengan ekor panjang melebihi tubuh. Ukuran panjang ekor pada betina lebih panjang dibandingkan pada jantan. Mencit dewasa jantan umumnya memiliki berat badan 20-40 g, sedangkan mencit dewasa betina 25-40 gram (Hedrich dkk. 2006). Kematangan seksual mencit jantan terjadi pada usia sekitar 5-7 minggu dan usia sekitar 3 minggu pada mencit betina.



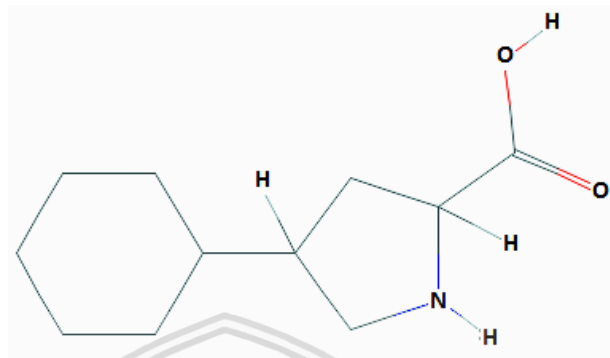
Gambar 2.2 Mus musculus (Jann, 2011)

Penggunaan mencit sebagai hewan coba pada penelitian kasus Glomerulonefritis akut sebelumnya pernah dilakukan oleh Nordstrand *et.al* (1998) bahwa deposisi streptokinase dalam glomeruli terdeteksi segera setelah 4 hari setelah infeksi. Temuan ini memberikan dukungan untuk hipotesis bahwa streptokinase memulai proses nefritis oleh deposisi glomerulus grup A infeksi streptokoku nefritogenik NZ131 dan EF514 strain. Selain itu penggunaan streptokinase pada mencit (mus musculus) sebagai model hewan glomerulonefritis akut juga pernah dilakukan oleh Murwani dkk, 2014.

2.3 Streptokinase

Streptokinase adalah protein ekstraseluler yang memiliki berat molekul 46 kDa, terdiri dari 414 asam amino, diproduksi oleh semua strain streptokokus grup A. Streptokinase ini memiliki rumus kimia $C_{11}H_{19}NO_2$. Streptokokus grup A dapat memproduksi dua jenis streptokinase imonogenik yaitu streptokinase yang dapat mengubah plasminogen menjadi plasmin dan

streptokinase yang mengubah C3 menjadi C3a yang merupakan suatu faktor kemotaktis (Gerber, 2004).



Gambar 2.3 Struktur kimia Streptokinase (Gerber, 2004)

Streptokinase menunjukkan aktivitas maksimum pada pH sekitar 7,5 dan pH isoelektrik pada 4,7, serta protein ini tidak mengandung cystine, sistein, fosfor, terkonjugasi oleh karbohidrat dan lemak (Renzo *et al.*, 2001). Menurut Smith (2003) beberapa penelitian pada model binatang dan penderita Glomerulonefritis Akut Pasca infeksi Streptokokus (GNAPS) menduga yang bersifat antigenik adalah M protein, endostreptosin, cationic protein, Exotoxin B, nephritis plasmin-binding protein dan streptokinase.

Streptokinase mengaktivasi plasminogen dengan cara tidak langsung yaitu dengan bergabung terlebih dahulu dengan plasminogen untuk membentuk kompleks aktivator. Selanjutnya kompleks aktivator tersebut mengkatalisis perubahan plasminogen menjadi plasmin. Apabila plasmin telah aktif maka enzim plasmin tersebut dengan mendegradasi (menghancurkan protein pembeku atau penggumpal darah. Streptokinase telah digunakan sebagai obat untuk mengatasi penyakit akibat pembekuan atau penggumpalan darah dalam tubuh (Donnan *et.al.*, 2006).

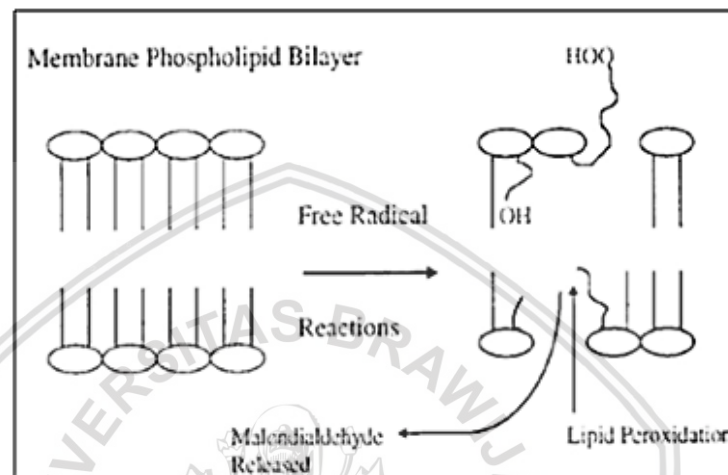
Menurut Nortstrand *et al* (1998), pada ginjal mencit yang diinduksi dengan Streptokokus strain nefritogenik NZ131 dan EF514 terlihat adanya deposisi streptokinase pada glomerulus yang terdeteksi setelah 4 hari setelah infeksi. Sementara pada ginjal mencit yang diinduksi dengan Streptokokus strain nonnefritogenik S84, tidak terlihat adanya deposisi streptokinase. Deteksi streptokinase pada ginjal meningkat sejalan dengan derajat hiperselularitas glomerulus, sehingga semakin banyak deposisi pada glomerulus maka tingkat kerusakan glomerulus semakin besar.

2.4 Malondialdehyde (MDA)

Malondialdehyde (MDA) adalah senyawa dialdehida yang merupakan produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh. MDA menunjukkan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh radikal bebas. Peningkatan radikal bebas akan menyebabkan stres oksidatif. Peningkatan stres oksidatif sesuai dengan peningkatan pembentukan MDA (Jeyabalan dan Caritis, 2007).

Menurut Luczaj and Skrzydlewska, (2003) peroksidasi lipid biasanya terbentuk melalui beberapa tahapan proses yaitu Inisiasi, Propagasi dan Terminasi. Pada tahap awal reaksi terjadi pelepasan hidrogen dari asam lemak tidak jenuh sehingga terbentuk radikal alkil yang terjadi karena adanya inisiator. Pada keadaan normal radikal alkil cepat bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil dimana radikal peroksil ini bereaksi lebih lanjut dengan asam lemak tidak jenuh membentuk hidroperoksida dengan radikal alkil, kemudian radikal alkil yang terbentuk ini bereaksi dengan oksigen.

Reaksi outoksidasi ini adalah reaksi berantai radikal bebas. Salah satu hasil produk degradasi ROOH adalah malondialdehid (MDA). Gambaran mekanisme pembentukan (MDA) Malondialdehyde secara sederhana sebagai berikut:



Gambar 2.4 Reaksi terbentuknya (MDA) (McBride and Kraemer, 2009)

Menurut Powers and Jackson, (2008) mekanisme kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui dan terbanyak diteliti adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Pengukuran tingkat peroksidasi lipid diukur dengan mengukur produk akhirnya, yaitu malondialdehyde (MDA), yang merupakan produk oksidasi asam lemak tidak jenuh dan yang bersifat toksik terhadap sel.

Malondialdehyde (MDA) telah ditemukan hampir di seluruh cairan biologis, termasuk pada plasma, urin, cairan persendian, cairan alveolus, cairan empedu, cairan getah bening, cairan mikro dialisis, dari berbagai organ, cairan amnion, cairan pericardial, dan cairan seminal. Namun plasma

dan urin merupakan sampel yang paling umum digunakan karena paling mudah didapatkan dan paling tidak invasif (Janero, 2001).

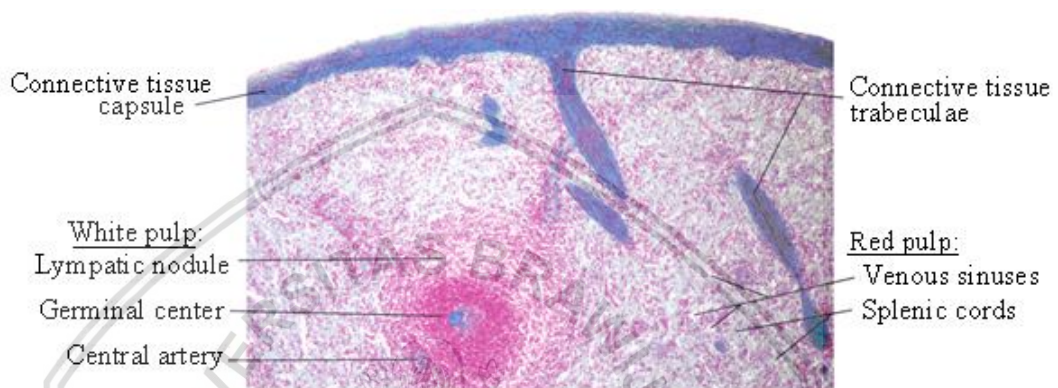
Malondialdehyde (MDA) sangat cocok sebagai biomarker untuk stres oksidatif karena beberapa alasan, yaitu pembentukan MDA meningkat sesuai dengan stres oksidatif, kadarnya dapat diukur secara akurat dengan berbagai metode yang telah tersedia, bersifat stabil dalam sampel cairan tubuh yang diisolasi, pengukurannya tidak dipengaruhi oleh variasi diurnal dan tidak dipengaruhi oleh kandungan lemak dalam diet, merupakan produk spesifik dari peroksidasi lemak, dan terdapat dalam jumlah yang dapat dideteksi pada semua jaringan-jaringan tubuh dan cairan biologis, sehingga memungkinkan untuk menentukan referensi interval (Llurba *et.al.*, 2004).

2.5 Limpa

Limpa adalah kelenjar tanpa saluran (*ductless*) yang berhubungan erat dengan sistem sirkulasi dan berfungsi menghancurkan sel darah merah tua. Limpa termasuk salah satu organ sistem limfoid, selain timus, tonsil, dan kelenjar limfe (Aughey and Frye, 2001). Limpa adalah salah satu organ yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh. Limpa merupakan kumpulan jaringan limfoid terbesar dalam organisme.

Secara anatomis, tepi limpa yang normal berbentuk pipih. Limpa tampak merah-ungu karena kandungan darahnya. Limpa dibungkus oleh kapsula, yang terdiri atas dua lapisan, yaitu satu lapisan jaringan penyokong yang tebal dan satu lapisan otot halus. Limpa terdiri atas pulpa putih dan

pulpa merah. Pulpa limpa ini menempati ruang antara trabekula dan simpai pembungkus limpa. Pulpa putih terdiri atas jaringan limfoid yang menyelubungi arteri sentralis dan nodulus limfatikus yang ditambahkan pada selubung (Erich *and* Hans, 2007). Histologi organ limpa dapat dilihat pada gambar 2.3.



Gambar 2.5 Pulpa merah dan pulpa putih dari Limpa pewarnaan Mallory (Eroschenko, 2013).

Di dalam limpa, limfosit T menumpuk di bagian tengah lapisan limfoid periarteriolar, dua per tiganya adalah sel Th CD4+ dan sepertiganya lagi adalah Sel T (CD8+). Sel B terdapat dalam folikel dan pusat-pusat germinal di bagian perifer, sel B dapat dijumpai dalam bentuk tidak teraktivasi maupun teraktivasi. Dalam pusat germinal juga dijumpai sel dendritik dan makrofag. Makrofag spesifik umumnya terdapat di daerah marginal, dan sel ini bersama-sama dengan sel dendritik berfungsi sebagai APC yang menyajikan antigen kepada sel B dan sel T (Mescher, 2010).

Fungsi limpa yaitu mengakumulasi limfosit dan makrofag, degradasi eritrosit, tempat cadangan darah, dan sebagai organ pertahanan terhadap infeksi partikel asing yang masuk ke dalam darah. Dalam melakukan fungsi tersebut, limpa menghasilkan antibodi humoral terhadap antigen yang

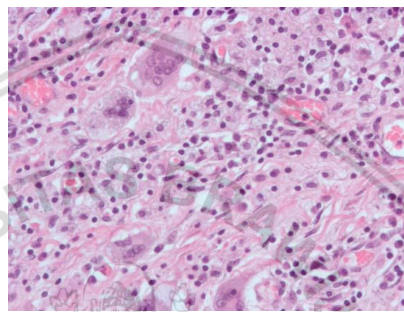
diangkut melalui darah. Selain itu, organ ini memiliki banyak makrofag yang berperan dalam destruksi sel darah merah yang sudah rusak (Guyton and Hall, 2006).

Patologi limpa dapat diklasifikasikan dalam beberapa kategori seperti gangguan limpa pada penyakit sistemik yang umum terlihat dan gangguan utama pada limpa itu sendiri. Untuk menyederhanakan berbagai gangguan tersebut, pembesaran limpa dapat berbentuk diffuse atau focal. Pada pembesaran limpa secara diffuse, perubahan pada parenchym limpa akan dominan akan melibatkan pulpa putih seperti pada septicemia (Petroianu, 2011). Menurut (Rosai, 2004) bahwa splenitis akut nonspesifik akan dimanifestasikan oleh pembesaran limpa, *diffuence*, *congestion*, dan infiltrasi neutrofil. Sistemik infeksi pada limpa juga dapat ditandai oleh congesti dan infiltrasi neutrofil pada pulpa merah (Cotran *et.al.*, 2004).

2.6 Giant cell

Giant adalah kata dalam bahasa Inggris yang muncul pada 1297 yang biasa digunakan untuk makhluk yang sangat besar bila dibandingkan dengan normal. Giant cell adalah sel yang terbentuk dari massa penyatuan beberapa sel yang berbeda (biasanya makrofag) atau monosit yang mengalami serangkaian interaksi interselular tertentu yang menghasilkan sel multinukleat dengan satu bagian sitoplasma tunggal. Giant cell dapat ditemukan didalam tubuh baik dalam keadaan fisiologis dan patologis (Johnathan, 2011).

Pembentukan giant cell didalam sistem imun sangat penting untuk mengendalikan serangan patogen dan hasil respon mediasi sel inflamasi yang diatur dengan erat dalam respon multiselular. Menurut Ananjan and Humaira, (2008) bahwa penggabungan sel-sel ini biasanya terbentuk karena mediasi imun sistem, aktivitas endotoksik, pengenalan abnormalitas permukaan makrofag oleh makrofag muda dan induksi virus.



Gambar 2.6 Giant cell, terlihat sel besar dengan kumpulan inti menyatu

2.7 Daun Kemangi (*Ocimum gratissimum* L.)

2.7.1 Klasifikasi

Klasifikasi Tanaman kemangi (*Ocimum gratissimum* L.) menurut Seidemann (2005) yaitu:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Asteridae
Ordo	: Lamiales

Famili	: Lamiaceae
Genus	: Ocimum
Spesies	: <i>Ocimum gratissimum</i> L.

2.7.2 Deskripsi

Kemangi (*Ocimum gratissimum* L.) adalah tumbuhan yang daunnya biasa dimakan sebagai lalap. Tumbuhan yang termasuk ke dalam famili Lamiaceae ini memiliki aroma daun yang khas serta kuat, namun lembut dengan sentuhan aroma limau. Di Indonesia, tanaman kemangi banyak ditemukan di daerah Sumatera, Jawa, dan Maluku. Namun, banyak dibudidayakan di daerah Jawa Barat untuk dicari kandungan minyak atsirinya.

Di Indonesia genus *ocimum* yang dikenal adalah *Ocimum gratissimum*. Kemangi merupakan tanaman semak semusim dengan tinggi 30-150 cm batangnya berkayu, segi empat, beralur, bercabang, dan memiliki bulu berwarna hijau (Hadipoentyanti dan Wahyuni, 2008). Menurut Raimo dan Yvonne (2005) tanaman kemangi memiliki daun tunggal, berwarna hijau, dan memiliki pertulangan menyirip. Letak daun berhadapan, tangkai daun berwarna hijau dan panjangnya antara 0,5 – 2 cm. Helaian daun berbentuk bulat telur, ujungnya meruncing dan pangkalnya tumpul, serta tampak menggelombang. Pada sebelah menyebelah ibu tulang daun terdapat 3 – 6 tulang cabang. Tepi daun sedikit bergerigi dan terdapat bintik-bintik serupa kelenjar. Gambar morfologi tanaman ini dapat dilihat pada gambar 2.4 berikut.



Gambar 2.7 Tanaman Kemangi (*Ocimum gratissimum* L.) (Seidemann, 2005)

Bunga kemangi tersusun pada tangkai bunga berbentuk menegak. Bunganya jenis hemafrodit, berwarna putih dan berbau sedikit wangi. Bunga majemuk berkarang dan di ketiak daun ujung terdapat daun pelindung berbentuk elips atau ulat telur dengan panjang 0,5-1 cm. Kelopak bunga berbentuk bibir, sisi luar berambut kelenjar, berwarna ungu atau hijau, dan ikut menyusun buah (Sudarsono dkk., 2002) pada (gambar 2.6).

2.7.3 Kandungan Kimia

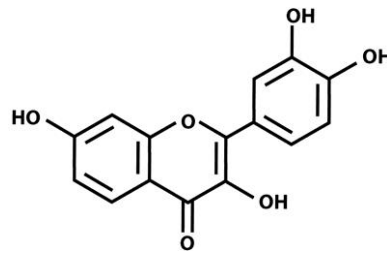
Berdasarkan penelitian-penelitian pada genus *Ocimum*, tanaman ini mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin, triterpenoid, dan minyak atsiri (Sahouo *et.al.*, 2003). Menurut Tanko *et.al* (2012) kandungan ekstrak daun kemangi (*Ocimum Gratissimum*) aktifitas antiinflamasi alkaloids, saponins, tannins dan flavonoids pada mencit dan

tikus terhadap edema yang disebabkan oleh formalin pada tikus dibandingkan dengan kelompok kontrol mengalami penurunan yang signifikan. Kandungan bioaktif dari daun kemangi yang paling berperan sebagai antiinflamasi (inflamasi akut maupun kronik) yaitu flavonoid, tannin dan eugenol (Liu *et.al.*, 2011). Selain itu, Daun kemangi dapat digunakan untuk mencegah formasi radikal bebas dan telah digunakan dalam pengobatan arthritis, nyeri otot, dan reumatik (Mishra *et al.*, 2007)

Senyawa fenolik seperti flavonoid, asam fenolat, dan tannin yang juga terkandung dalam daun kemangi merupakan antioksidan primer maupun sekunder yang dapat mencegah terjadinya proses oksidasi lebih lanjut dengan cara mendonorkan atom hidrogennya kepada radikal bebas sehingga dapat menghambat terbentuknya radikal peroksida pada tahap propagasi (Grassi *et.al*, 2010).

2.7.3.1 Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok besar senyawa polifenol tanaman yang tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon (Ledgard, 2006), struktur kimia dapat dilihat pada gambar 2.7 berikut.



Gambar 2.8 Struktur kimia flavonoid (Ledgard, 2006)

Mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya inflamasi yaitu pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari membran dengan memblok jalur siklooksigenase, jalur lipoksigenase, dan fosfolipase A₂, sementara konsentrasi rendah hanya memblok jalur lipoksigenase. Asam arakidonat dari sel inflamasi yang terhambat akan menyebabkan kurang tersedianya substrat arakidonat bagi jalur sirklooksigenase dan lipoksigenase, yang akhirnya menekan jumlah prostaglandin, prostasiklin, endoperoksida, tromboksan, saru, sisi, dan asam hidroperoksida, asam hidroksieikosatetraienoat, leukotrin, disisi lainnya (Sabir, 2003).

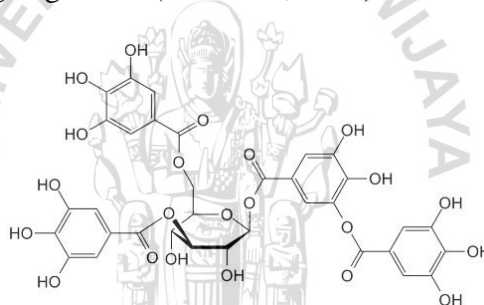
Menurut Haryani, dkk (2012) dan Naibaho, dkk (2013) bahwa daun kemangi memiliki kandungan flavonoid bersifat anti inflamasi yang dapat mengurangi rasa sakit apabila terjadi pendarahan atau pembengkakan pada luka. Selain itu, flavonoid bersifat sebagai antibakteri dan antioksidan yang dapat meningkatkan kerja sistem imun dan membantu proses penyembuhan luka.

Gugus fungsi pada senyawa flavonoid dapat berperan sebagai penangkap radikal bebas hidroksi (OH) sehingga tidak mengoksidasi

lemak, protein, dan DNA dalam sel. Kematian sel hati pun dapat dicegah. Kemampuan flavonoid dalam menangkap radikal bebas ini 100 kali lebih efektif dibandingkan 25 vitamin C dan 25 kali lebih efektif dibandingkan vitamin E (Sherene, 2007).

2.7.3.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa inti berupa glukosa yang dikelilingi oleh lima gugus ester galoil atau lebih dengan inti molekulnya berupa senyawa dimer asam galat, yaitu asam heksahidroksidifenat yang berikatan dengan glukosa (Harborne, 2006).

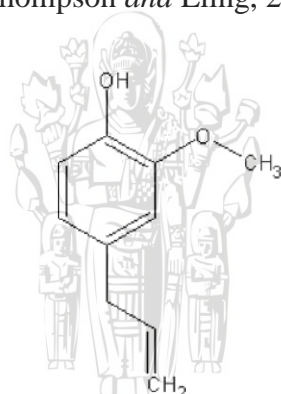


Gambar 2.9 Struktur kimia tanin (Ledgard, 2006).

Tanin mempunyai efek farmakologis dan fisiologis yang berasal dari senyawa kompleks. Pembentukan ini didasari dari rantai hidrogen dan interaksi hidrofobik antara tanin dan protein. Tanin juga mempunyai manfaat sebagai antioksidan yang bisa mencegah berbagai penyakit termasuk kanker. Hal ini karena tannin merupakan bagian dari senyawa fenolik yang bersifat antioksidan (Sumono dan Wulan, 2003).

2.7.3.3 Eugenol

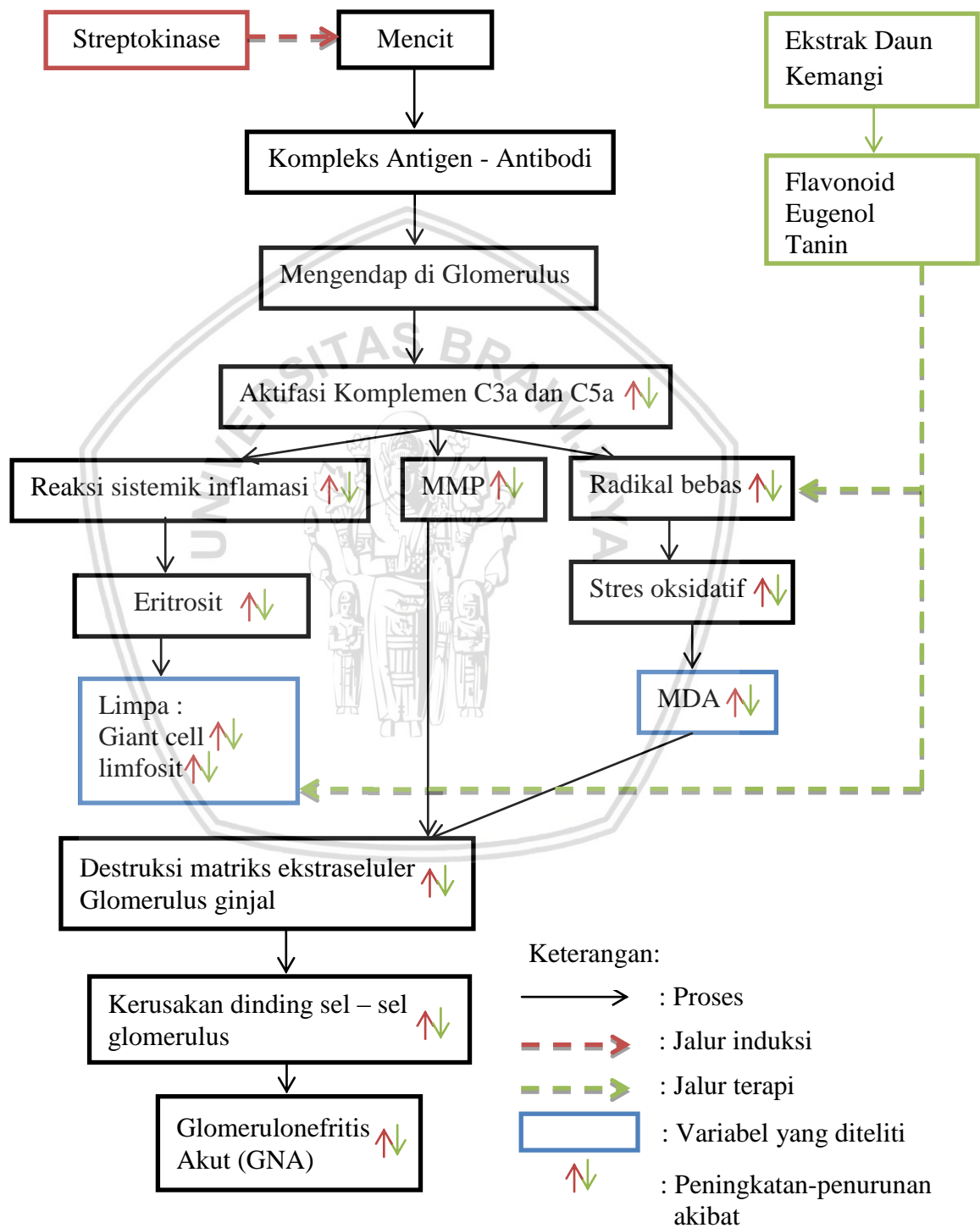
Eugenol adalah fenilpropena, suatu guaiakol rantai-bersubstitusi alil. Eugenol merupakan anggota dari kelas senyawa kimia fenilpropanoid, struktur kimia eugenol dapat dilihat pada gambar 2.7. Eugenol yang merupakan penyusun minyak atsiri dilaporkan dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat pembentukan tromboksan sehingga juga berperan dalam efek antiinflamasi (Srivastava, 2003). Eugenol juga dapat menghambat aktivitas PGH sintase karena berkompetisi dengan asam arakhidonat pada sisi aktif PGH sintase sehingga menghambat pembentukan PG (Thompson *and* Eling, 2009).



Gambar 3.0 Stuktur kimia eugenol (Ledgard, 2006)

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 KERANGKA KONSEP



Streptokinase adalah suatu protein ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri *Streptokokus*, apabila masuk ke dalam tubuh maka respon tubuh akan terbentuk dengan mengaktifkan sistem imun. Antibodi tubuh akan berikatan dengan antigen (streptokinase) membentuk suatu kompleks antigen-antibodi. Kompleks antigen-antibodi ini lebih mudah untuk diendapkan pada tempat-tempat dengan tekanan darah yang meninggi dan disertai putaran arus salah satunya pada glomerulus ginjal. Karena dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti gangguan fungsi fagosit, ukuran kompleks yang kecil dan larut sehingga sulit untuk dimusnahkan. Salah satu sebab kompleks imun yang kecil karena ukuran perbandingan antigen jauh lebih besar dari antibodi. Dengan adanya endapan kompleks imun ini maka sistem tubuh akan mengaktifkan komplemen (C3a dan C5a).

Komplemen yang diaktifkan untuk melepaskan radikal bebas dan menginduksi enzim *matrix metalloproteinase* (MMP) dalam jumlah besar sehingga menyebabkan destruksi atau kerusakan matriks ekstraseluler pada glomerulus. Kadar radikal bebas yang tinggi akan menekan kadar antioksidan sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif dapat merusak komponen sel-sel dalam glomerulus. Kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui adalah peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Sehingga parameter pemeriksaan MDA dapat dilakukan untuk mengetahui seberapa tingkat peroksidasi lipid pada membran sel.

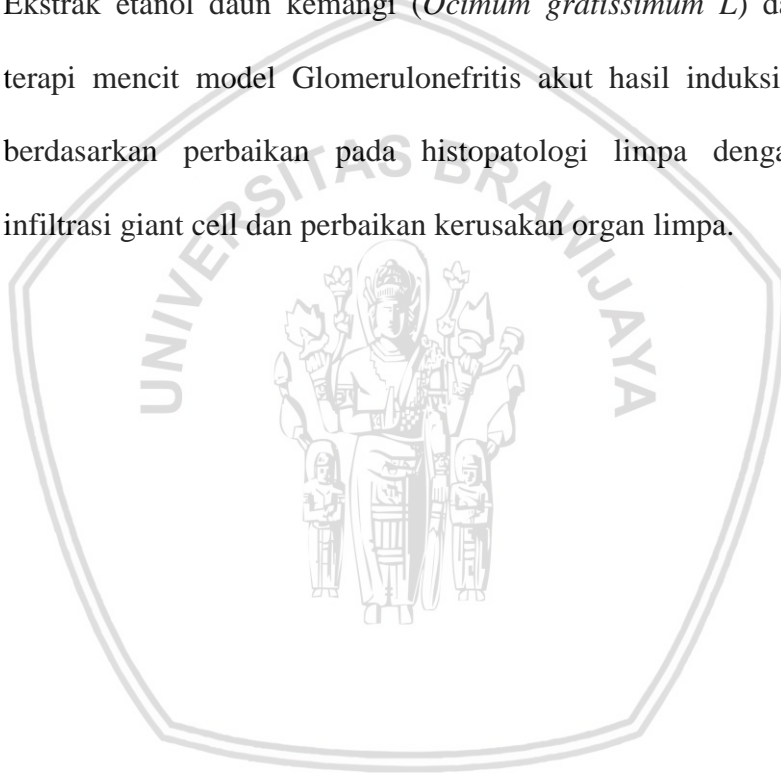
Kasus glomerulonefritis akut ditandai dengan peningkatan sitokin pro-inflamasi, aktivator kaskade komplemen dan neutrofil merupakan salah satu contoh dari respon inflamasi sistemik akibat adanya kompleks imun. Respon yang berlebih ini dapat menjadikan salah satu penyebab dari kerusakan endotel dan berakibat kerusakan organ. Salah satu organ yang mengalami kerusakan yaitu limpa, karena limpa memiliki fungsi sebagai pertahanan tubuh. Kompleks imun dalam sirkulasi yang tidak menempel pada glomerulus akan diikat dan diangkut oleh eritrosit ke limpa dan dimusnahkan oleh sel fagosit. Dari mekanisme tersebut maka pengamatan pada histopatologi limpa dilakukan seperti melihat infiltrasi giant cell dan kerusakan pada organ limpa.

Pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) memiliki kandungan flavonoid, eugenol, dan tanin yang memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan. efek antioksidan dalam senyawa yang terkandung diharapkan dapat mengurangi radikal bebas pada reaksi penyebab peroksidasi lipid dalam penelitian ini sehingga kadar mda ginjal hewan model mengalami penurunan. Begitu juga dengan efek antiinflamasi yang terkandung dalam senyawa ekstrak daun kemangi diharapkan dapat menurunkan infiltrasi giant cell dan mengurangi kerusakan pada organ limpa pada hewan model GNA yang induksi streptokinase.

3.2 HIPOTESIS PENELITIAN

Berdasarkan rumusan masalah yang telah ada, maka hipotesis yang diajukan adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L*) dapat dijadikan terapi mencit model Glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase berdasarkan penurunan kadar MDA (*malondialdehid*) ginjal.
2. Ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L*) dapat dijadikan terapi mencit model Glomerulonefritis akut hasil induksi streptokinase berdasarkan perbaikan pada histopatologi limpa dengan penurunan infiltrasi giant cell dan perbaikan kerusakan organ limpa.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dimulai pada bulan Desember 2014 hingga bulan Februari 2015. Pelaksanaan penelitian terdiri atas beberapa tahapan meliputi tahapan sebagai berikut:

1. Pembuatan ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) dilakukan di Laboratorium Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang.
2. Tahapan perawatan, perlakuan, dan pembedahan dilaksanakan di Klinik Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang.
3. Pengukuran kadar BUN dan kreatinin serum di Laboratorium Sentral Rumah Sakit Saiful Anwar Malang.
4. Tahapan pengukuran kadar MDA (*malondialdehid*) ginjal di Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
5. Pembuatan histopatologi limpa di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

4.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain:

1. kandang dari kotak plastik dengan ukuran 35 x 27,5 x 12 cm, tutup kandang dari anyaman kawat, rak tempat meletakkan kandang, tempat pakan dan minum, lampu dan sekam.

2. Alat preparasi dan pemberian streptokinase pada hewan coba terdiri atas mikrotube, mikro pipet, yellow tip, blue tip, spuit insulin 1 ml, *ice box*, kapas, *glove* dan *masker*.
3. Alat preparasi dan pemberian ekstrak etanol daun kemangi pada hewan coba terdiri atas timbangan analitik, plastik klip, aluminium foil, botol 50 ml, sonde lambung dan spuit 1 ml *Terumo*.
4. Alat pembedahan mencit setelah perlakuan dan preparasi organ terdiri atas gunting, pinset dan papan pembedahan hewan coba.
5. Alat untuk pengukuran MDA ginjal dan histopatologi antara lain mortar, tabung polipropilen, sentrifus, spektrofotometer, *Tissue Tex Processor*, *microtome*, oven, bak celup kaca, objek gelas, *coverglas* dan mikroskop OLYMPUS CX 22.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mencit jantan usia 6-8 minggu dengan berat 20-25 gram, pakan, air minum, sekam, streptokinase, ringer laktat, ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L*), alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, Ringer Laktat, aquades, formalin 10%, *paraffin*, larutan xylol, pewarna *Harris Haematoxylen*, pewarna *Eosin 1%*, alkohol asam, NaCl-fisiologis, TCA (tri choro acetid acid), HCl 1N dan Na-Thio 1%.

4.3 Tahapan Penelitian

Berikut ini adalah tahapan penelitian yang dilakukan:

1. Persiapan hewan coba dan Rancangan penelitian
2. Pembuatan ekstrak etanol daun kemangi
3. Pembuatan hewan model glomerulonefritis akut
4. Pemberian terapi ekstrak etanol daun kemangi
5. Pengambilan organ ginjal dan limpa
6. Penghitungan kadar MDA ginjal
7. Pembuatan preparat histopatologi limpa
8. Analisis data

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan hewan coba

Persiapan hewan Coba berupa mencit (*Mus musculus*) jantan berumur 6-8 minggu dengan berat 20-25 gram dalam keadaan sehat, diadaptasikan selama tujuh hari (Kusmawati, 2004) di Klinik Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya Malang, hal ini bertujuan untuk mengoptimalkan kondisi tubuh terhadap lingkungan baru. Pemberian pakan berupa *pellet* konsentrat Susu Pap dan dan minum air mineral secara *ad libitum* pada semua mencit. Mencit dikandangkan dalam dari bak plastik yang diberi penutup kawat dan diberi alas berupa serat kayu atau sekam.

4.4.2 Rancangan penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Pengukuran parameter MDA dan histopatologi limpa dilakukan *post test control design only*. Hewan coba dalam penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan, antara lain:

1. Kelompok kontrol negatif adalah mencit jantan sehat dan tanpa diinduksi streptokinase.
2. Kelompok kontrol positif adalah mencit jantan model GNA (glomerulonefritis akut) yang diinduksi streptokinase dengan dosis 2500 IU.
3. Kelompok terapi 1 adalah mencit jantan model GNA (glomerulonefritis akut) yang diinduksi streptokinase dengan dosis 2500 IU kemudian diterapi ekstrak daun kemangi dengan dosis 400 mg/kg BB.
4. Kelompok terapi 2 adalah mencit jantan model GNA (glomerulonefritis akut) yang diinduksi streptokinase dengan dosis 2500 IU kemudian diterapi ekstrak daun kemangi dengan dosis 800 mg/kg BB,
5. Kelompok terapi 3 adalah mencit jantan model GNA (glomerulonefritis akut) yang diinduksi streptokinase dengan dosis 2500 IU kemudian diterapi ekstrak daun kemangi dengan dosis 1200 mg/kg BB.

Variabel yang diamati pada penelitian ini antara lain variabel bebas yaitu dosis terapi ekstrak etanol daun kemangi. Variabel tidak bebas (Variabel tergantung) yaitu kadar MDA dan histopatologi limpa, dan variabel kontrol yaitu hewan model glomerulonefritis akut, jenis kelamin, umur, berat badan dan pakan.

Penentuan jumlah sampel minimal menggunakan rumus $p(n-1) \geq 15$, dimana (p) adalah banyaknya perlakuan dan (n) adalah banyaknya ulangan (Kusriningrum, 2010), perhitungan banyaknya ulangan sebagai berikut:

$p(n-1) \geq 15$	Keterangan:
$5(n-1) \geq 15$	p = jumlah kelompok (terdiri dari empat
$5n-5 \geq 15$	macam perlakuan)
$5n \geq 15+5$	n = jumlah ulangan yang diperlukan
$5n \geq 20$	
$n \geq 20/5$	
$n \geq 4$	

Berdasarkan perhitungan jumlah ulangan di atas, maka perlakuan sebanyak empat macam membutuhkan paling sedikit empat kali ulangan dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba.

4.4.3 Pembuatan ekstrak etanol daun kemangi

Menurut Gennaro (2002), pembuatan ekstrak etanol daun kemagi ini dengan menggunakan metode maserasi, tahapannya dimulai dengan

mencuci bersih daun kemangi dan kemudian dimasukkan oven dengan suhu 40-60°C hingga daun kering. Tahapan selanjutnya yaitu proses ekstraksi, daun kemangi yang telah kering dihaluskan dengan blender sampai halus, ditimbang sebanyak 100 gram dan dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 100 mililiter. Daun kemangi kering tersebut ditambahkan dengan etanol 96% sampai menjadi 100 mililiter dan dikocok hingga benar – benar tercampur. Rendaman daun kemangi dan etanol didiamkan selama satu hari hingga mengendap, kemudian diambil lapisan atas campuran etanol (pelarut) dengan zat aktif yang sudah tercampur dengan penyaringan menggunakan kertas saring. Larutan campuran etanol dan zat aktif kemangi tersebut kemudian dievaporasi menggunakan penangas air dengan suhu 80°C hingga ekstrak menjadi kental, kemudian di evaporasi kembali dengan menggunakan oven untuk menghilangkan etanol yang tersisa. Evaporasi dengan oven dengan suhu 70°C. Ekstrak daun kemangi yang telah dievaporasi diencerkan dengan akuades agar mudah untuk disondekan.

4.4.4 Pembuatan hewan model glomerulonefritis akut

4.4.4.1 Preparasi Streptokinase

Streptokinase didapatkan dari Rumah Sakit Saiful Anwar (RSSA) Malang berupa serbuk didalam vial yang berisi 1.500.000 IU. Dosis yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 2500 IU. Secara sistematis dapat dilihat pada lampiran 3.

Pengenceran streptokinase untuk mendapatkan dosis 2500 IU adalah sebagai berikut:

1. Streptokinase yang berjumlah 1.500.000 IU berbentuk serbuk dalam vial diencerkan dengan larutan Laktat Ringer sebanyak 2 ml dan dihomogenkan.
2. Larutan streptokinase stok 2 ml diambil sebanyak 53.34 μ l dimasukkan dalam mikrotube sehingga konsentrasi 40000 IU.
3. Dari sediaan tersebut kemudian ditambahkan pengencer Laktat Ringer sebanyak 646,66 μ l hingga volumenya menjadi 700 μ l sehingga konsentrasinya menjadi 100 IU/ μ l dan dihomogenkan (sediaan pertama).
4. Sediaan streptokinase pertama ini kemudian diambil masing-masing 25 μ l dan dimasukkan kedalam 16 mikrotube.
5. Dari sediaan tersebut kemudian ditambahkan pengencer Laktat Ringer sebanyak 75 μ l hingga volumenya menjadi 100 μ l sehingga konsentrasinya menjadi 2500 IU/ μ l pada masing-masing mikrotube.

4.4.4.2 Induksi streptokinase pada hewan coba

Seminggu pasca adaptasi hewan coba dilakukan injeksi streptokinase pada 16 ekor mencit, empat ekor lainnya tidak diinjeksi dengan streptokinase karena sebagai kontrol negatif. Injeksi streptokinase dengan dosis 2500 IU/ekor dilakukan

sebanyak dua kali dengan selang 4 hari dengan rute intramuscular (IM) Beacon pharmaceuticals (2009). Setelah diinduksi streptokinase kedua dihari ke 8 maka dilakukan pengambilan sampel serum dari masing-masing kelompok untuk diperiksa kadar BUN dan kreatininnya. Sampel yang digunakan yaitu serum darah. BUN dan kreatinin merupakan produk metabolisme yang sangat bergantung pada filtrasi glomerulus untuk ekskresinya, sehingga keduanya zat-zat tersebut akan meningkat jika fungsi ginjal terganggu terutama pada fungsi filtrasinya. Apabila kadar urea dan kreatinin meningkat secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif maka dipastikan bahwa mencit tersebut telah menderita glomerulonefritis akut. Menurut Alpers (2006), kadar BUN dan kadar kreatinin digunakan sebagai indikator tes fungsi ginjal yang meliputi kerusakan ginjal pada tubulus, glomerulonefritis, serta dapat menentukan kemampuan filtrasi glomerulus. Kreatinin serum sangat berguna untuk mengevaluasi fungsi glomerulus (Vajpayee *et al.*, 2006).

4.4.5 Pemberian terapi ekstrak etanol daun kemangi

Pemberian terapi dilakukan selama 14 hari yang dilakukan 1 hari setelah pemberian injeksi streptokinase yang ke 2. Terapi ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L*) diberikan pada kelompok terapi 1, kelompok terapi 2 dan Kelompok terapi 3. Tiap mencit diberikan

volume 0,2 ml yang didalamnya sudah mengandung ekstrak kemangi sesuai dosis per kelompok. Adapun perhitungan pengenceran dapat dilihat pada Lampiran 5. Pemberian terapi rutin dilakukan satu kali per hari sebelum hewan coba diberi pakan agar penyerapan ekstrak dari daun kemangi lebih optimal (Gautam dan Goel, 2014).

4.4.6 Pengambilan organ ginjal dan limpa

Pengambilan organ ginjal dan limpa pada hewan coba mencit semua kelompok yang dilakukan satu hari setelah pemberian terapi akhir ekstrak daun kemangi. Langkah awal yang dilakukan yaitu hewan dimatikan dengan cara dislokasi leher kemudian dilakukan pembedahan. Organ ginjal diambil dari tubuh mencit kemudian dibilas dengan NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan dalam plastik klip dan disimpan pada suhu $\pm 4^{\circ}\text{C}$ kemudian dibawa untuk diukur kadar MDA, sampel tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam pasca pembedahan (Varadkk., 2013). Menurut Samkhan dan Niati (2009) penanganan organ setelah dibedah dengan cara organ limpa juga diambil dan dibilas dengan NaCl fisiologis 0,9% dan disimpan dalam larutan formalin 10% didalam pot kecil untuk pembuatan preparat histopatologi.

4.4.7 Penghitungan kadar MDA

Menurut Zainuri dan Wanandi (2012) metode pengukuran kadar MDA dengan mengambil 0,5 gram organ ginjal, kemudian bersama pasir kuarsa digerus dengan mortar hingga halus. Kemudian ditambahkan 200 μL NaCl-fisiologis ke dalam mortar. Homogenat

dimasukkan ke dalam tabung polipropilen dan ditambah 550 μL akuades. Kemudian ditambah 100 μL TCA dan dihomogenkan. Selanjutnya ditambah 250 μL HCl 1N dan dihomogenkan. Lalu campuran ditambah 100 μL Na-Thio 1% dan disentrifugasi pada kecepatan 500 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dan disaring menggunakan glass wool. Supernatan yang diperoleh dipanaskan dalam waterbath 100°C selama 20 menit. Supernatan yang telah dipanaskan selanjutnya didinginkan pada temperatur ruang. Setelah itu ditentukan nilai absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm. Secara sistematis dapat dilihat pada lampiran 6 dan hasil pada lampiran 11.

4.4.8 Pembuatan preparat histopatologi limpa

Menurut Jusuf (2009) pembuatan preparat histopatologi jaringan hewan dengan pewarnaan Hematoksin eosin (H&E) sebagai berikut: Tahapan pertama yang dilakukan dalam pembuatan preparat histopatologi dengan melakukan fiksasi organ pada larutan formalin 10%. Organ selanjutnya dipotong menggunakan pisau *scalpel* dengan ketebalan 0,3 - 0,5 mm dan disusun ke dalam *tissue cassette*, kemudian sejumlah *tissue cassette* dimasukkan ke dalam keranjang khusus (basket). Tahapan kedua yaitu dehidrasi yang bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi. Jaringan dimasukkan dalam larutan alkohol dengan konsentrasi bertingkat alkohol 70%, 80%, 90%, 95% dan 100% selama

satu hari. Tahapan ketiga *Clearing* yaitu suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan. Setelah jaringan dikeluarkan dari cairan dehidrasi (alkohol) jaringan dimasukkan kedalam xylol I selama 1 jam dan jaringan kemudian dipindahkan ke cairan xylol II selama 30 menit. Jaringan kemudian direndam dalam parafin cair di dalam oven selama kira-kira 30 menit. Setelah itu jaringan siap untuk dimasukkan kedalam blok parafin. Tahapan keempat yaitu *embedding* yaitu proses untuk mengeluarkan cairan *clearing*. Jaringan dibenamkan ke dalam parafin/paraplast I selama 2 jam, setelah pembenaman proses dapat dilanjutkan dengan *bloking* dengan menggunakan parafin. Kemudian dilakukan pemotongan (*mounting*) dimana pemotongan blok preparat dengan menggunakan microtome dengan ketebalan 5-7 μm . Pita parafin yang mengandung jaringan lalu dipindahkan secara hati-hati dengan menggunakan kuas, pita parafin ditempelkan pada kaca objek.

Tahapan selanjutnya yaitu pewarnaan (*staining*). Hidrasi dalam larutan alkohol dengan gradasi yang menurun dari 100%, 95%, 90%, 80% dan 70%. Inkubasi dalam larutan hematoksilin selama 15 menit. Kemudian dibilas dalam air mengalir dalam waktu yang singkat dan mencelup dalam campuran asam-alkohol secara cepat 3-10 celupan. Kemudian dibilas dalam air mengalir secara singkat dan dicelupkan sebanyak 3-5 kali dalam larutan ammonium atau lithium karbonat hingga potongan bewarna biru cerah. Kemudian dicuci dalam air mengalir selama 10-20 menit. Selanjutnya inkubasi dalam eosin selama

15 detik hingga 2 menit. Kemudian dehidrasi dalam alkohol dengan konsentrasi yang meningkat secara perlahan, masing-masing selama 2 menit lalu inkubasi dalam xylol 2x2 menit kemudian ditutup dengan kaca penutup. Secara sistematis dapat dilihat pada lampiran 7. Perhitungan jumlah Giant cell dilakukan dengan cara menghitung jumlah sel pada lapang pandang pada lima lokasi yang berbeda yaitu pada keempat sudut dan tengah organ kemudian dihitung rata-ratanya dan akan ditampilkan pada lampiran 14.

4.4.8 Analisis data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu menggunakan analisa kuantitatif statistik *One Way*. Menurut Dahlan, (2011) sebelum dilakukan analisa *One Way ANOVA* ($\alpha = 0.05$) dilakukan uji distribusi data menggunakan Shapiro-Wilk karena jumlah sampel kurang dari 50. Selanjutnya melakukan uji homogenitas untuk mengetahui data tersebut memiliki varian yang sama atau tidak. Jika data berdistribusi normal dan homogen maka memenuhi syarat parametrik menggunakan *One Way ANOVA*. Gambaran histopatologi limpa dianalisa secara deskriptif dan jumlah giant cell pada limpa dihitung rata-rata dan standar deviasi.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pembuatan Hewan Model Glomerulonefritis Akut Berdasarkan Kadar *Blood Urea Nitrogen* (BUN) dan kreatinin serum

Penetapan diagnosa Mencit Glomerulonefritis Akut (GNA) tidak dapat dilakukan secara patognomonis akan tetapi dapat dilihat dengan mengetahui adanya gangguan gejala klinis seperti hematuria, proteinuria, polydipsia, polyuria, anoreksia dan nausea, serta melakukan pemeriksaan pendukung seperti pemeriksaan laboratorium (Brown, 2013). Salah satunya dengan pemeriksaan kadar BUN dan kreatinin serum untuk mengetahui apakah ada gangguan fungsi ginjal. Berikut ini adalah Hasil pemeriksaan BUN dan Kreatinin serum pasca induksi streptokinase.

Tabel 5.1 Hasil pemeriksaan BUN dan Kreatinin serum pasca induksi streptokinase

Kelompok	Rataan kadar Kreatinin (mg/dL)	Rataan kadar BUN (mg/dL)
Kontrol negatif	0,91	24
Kontrol positif	2,42	32,75
Terapi 1	2,2	33,75
Terapi 2	2,22	34,75
Terapi 3	2,37	35,5

Berdasarkan hasil pengukuran kadar BUN dan kreatinin serum didapatkan hasil bahwa kadar BUN dan kreatinin serum kelompok kontrol positif, Terapi 1 ekstrak kemangi dosis 400 mg/kgBB, Terapi 2 ekstrak kemangi dosis 800 mg/kgBB dan Terapi 3 ekstrak kemangi dosis 400 mg/kgBB yang diinduksi dengan streptokinase mengalami peningkatan jika

dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (mencit sehat) yang tidak diinduksi dengan streptokinase (lampiran 15) dan telah melewati kadar normal BUN dan kreatinin normal pada mencit yaitu 17-28 mg dL untuk kadar BUN dan 0,5-1,4 mg/dL untuk kadar kreatinin serum (Stevens and Levey, 2004). Menurut Alpers (2006), kadar ureum (BUN) dan kadar kreatinin digunakan sebagai indikator tes fungsi ginjal yang meliputi kerusakan ginjal pada tubulus, glomerulonefritis, serta dapat menentukan kemampuan filtrasi glomerulus. Menurut Okaiyeto *et al.*, (2013) juga menyatakan Glomerulonefritis akut akan mengalami peningkatan kadar BUN dan kreatinin serum disertai adanya neutrofilia dan leukositosis akibat adanya inflamasi akut. Sehingga berdasarkan hasil yang diperoleh, mencit tersebut mengalami glomerulonefritis akut.

Streptokinase yang masuk akan mengendap pada glomerulus ginjal. Kemudian akan diikat oleh antibodi sehingga membentuk kompleks antigen antibodi. Adanya ikatan antigen antibodi pada jaringan akan menimbulkan reaksi hipersensitivitas tipe III. Maka imunitas tubuh akan merespon dengan adanya aktivasi komplemen C3a dan C5a (anafilotoksin), influks neutrofil serta sitokin akan diproduksi. Komplek antigen antibodi ini mengaktifkan mediator biokimiawi inflamasi seperti komplemen, leukosit dan fibrin. Komplemen yang diaktifkan akan menarik sel-sel neutrofil serta monosit untuk memakan kompleks imun dan bersama dengan trombosit yang digumpalkan melepas berbagai bahan seperti protease, kolagenase dan bahan vasoaktif sehingga terjadi perdarahan dan nekrosis jaringan setempat sehingga meningkatkan permeabilitas membran glomerulus dan

menimbulkan adanya inflamasi (Pardede, 2009). Peningkatan kadar BUN dan Kreatinin merupakan bagian dari respon terhadap laju filtrasi ginjal yang mengalami penurunan akibat adanya inflamasi pada glomerulus.

5.2 Terapi Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum gratissimum* L.) Terhadap Kadar MDA (*Malondialdehyde*) Ginjal Mencit Model Glomerulonefritis Akut (GNA)

Malondialdehyde (MDA) yang merupakan senyawa dialdehida yang menjadi produk akhir peroksidasi lipid dalam tubuh dapat diketahui sebagai marker biologis dalam penelitian ini pada mencit glomerulonefritis akut (GNA). Berdasarkan hasil perhitungan kadar MDA (*malondialdehyde*) ginjal dengan menggunakan spektrofotometer dalam penelitian ini didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.2. Persentase Perubahan Kadar *Malondialdehyde* (MDA) Ginjal

Kelompok	Rataan Kadar MDA \pm SD
Kontrol negatif	1379,6 \pm 13,6 ^a
Kontrol positif	1790,8 \pm 63,9 ^e
Terapi 1 400 mg/kg BB	1424 \pm 130,1 ^b
Terapi 2 800 mg/kg BB	1468,3 \pm 172,7 ^c
Terapi 3 1200 mg/kg BB	1664,6 \pm 86,1 ^d

Keterangan: notasi yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan nyata ($p < 0,05$)

Hasil uji *one way ANOVA* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum* L.) dapat menurunkan kadar MDA ginjal secara signifikan ($p < 0,05$) (lampiran 12). Hasil *post hoc* dengan uji Tukey didapatkan hasil bahwa kelompok terapi 1, kelompok terapi 2 dan kelompok terapi 3 memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol

positif ($p < 0,05$) (lampiran 12) ditunjukkan dengan notasi yang berbeda dengan kontrol positif. Kelompok terapi 1 merupakan kelompok terapi terbaik hal ini dapat dilihat dari tanda notasi yang mendekati kelompok kontrol negatif. Penurunan kadar rata-rata *malondialdehyde* (MDA) ini dapat disebabkan adanya kandungan flavonoid, eugenol dan tanin yang terdapat pada ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*). Ketiga kandungan biokimia ini diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Liu *et.al.*, 2011).

Kadar MDA ginjal pada kelompok kontrol negatif tetap ada, hal ini terjadi karena secara tidak langsung didalam tubuh terbentuk radikal bebas secara terus menerus baik melalui proses metabolisme sel normal maupun dari faktor luar. Menurut Mousaa (2008), radikal bebas yang ada di dalam tubuh dihasilkan oleh proses metabolisme sel normal. Pada proses respirasi mitokondria, molekul oksigen penting untuk melengkapi metabolisme glukosa dan substrat lain selama produksi ATP. Proses respirasi akan menghasilkan produk sampingan berupa radikal bebas superoksida (Evans *et al.*, 2002). Sehingga peroksidasi lipid oleh radikal bebas yang membentuk MDA tetap ada meskipun kontrol negatif tidak diberikan perlakuan dengan induksi streptokinase. Kerusakan akibat radikal bebas dapat diminimalkan dengan antioksidan didalam tubuh sendiri secara alami (endogen). Antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathion peroxidase* menghambat oksidasi komponen seluler dengan secara langsung 'menangkap' ROS dan reactive nitrogen species, memetabolisme peroksidase lipid menjadi substansi non-radikal, dan

dengan reaksi chelation ion logam untuk mencegah terbentuknya oksidan (Clarkson and Thompson, 2000).

Peningkatan kadar *malondialdehyde* (MDA) ginjal yang terjadi pada kelompok kontrol positif disebabkan oleh peroksidasi sel lipid akibat Antibodi tubuh akan berikatan dengan antigen (streptokinase) membentuk suatu kompleks antigen-antibodi. Endapan kompleks imun ini yang tidak dapat dimusnakan oleh sistem imun secara normal dan tubuh mengaktifkan komplemen C3a dan C5a (anafilatoksin). Menurut Hilmanto (2007) dan Subowo (2010) Komplemen yang diaktifkan untuk melepaskan radikal bebas dan menginduksi enzim *matrix metalloproteinase* (MMP) dalam jumlah besar sehingga menyebabkan destruksi atau kerusakan matriks ekstraseluler pada glomerulus. Kadar radikal bebas yang tinggi akan menekan kadar antioksidan sehingga terjadi stres oksidatif. Kerusakan sel atau jaringan akibat serangan radikal bebas yang paling awal diketahui adalah peroksidasi lipid.

Peroksidasi lipid paling banyak terjadi di membran sel, terutama asam lemak tidak jenuh yang merupakan komponen penting penyusun membran sel. Radikal bebas bereaksi dengan komponen asam lemak dari membran sel sehingga terjadi reaksi berantai dan terjadi peroksidasi lipid yang menyebabkan terputusnya rantai asam lemak dan menghasilkan senyawa toksik salah satunya adalah *malondialdehyde* MDA, Jumlah *malondialdehyde* MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi (Bracco and Jardine, 2007). Sehingga kadar

MDA ginjal pada kontrol positif mengalami peningkatan yang cukup besar dibanding kontrol negatif.

Penurunan kadar rata-rata *malondialdehyde* (MDA) ini pada kelompok terapi dapat disebabkan adanya kandungan flavonoid, eugenol dan tanin yang terdapat pada ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*). Ketiga kandungan biokimia ini diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Hal ini terlihat pada uji Tukey didapatkan hasil bahwa kelompok terapi 1, kelompok terapi 2 dan kelompok terapi 3 memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol positif ($p < 0,05$) (lampiran 12).

Malondialdehyde (MDA) merupakan senyawa yang sangat reaktif yang merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid, dan digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lipid untuk menilai stres oksidatif dalam tubuh. Untuk mengendalikan dan mengurangi peroksidasi lipid, baik tubuh maupun alam memerlukan antioksidan (Mayer, 2001). Menurut Kim (2005), bahwa aktivitas antioksidan dapat bekerja melalui beberapa mekanisme, yaitu mencegah reaksi inisiasi, penghambatan pembentukan peroksida, penghambatan pemecahan hidrogen yang berkelanjutan, kapasitas mereduksi dan penangkapan radikal. Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Antioksidan memiliki dua fungsi kerja, fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida ($R\bullet$, $ROO\bullet$) atau

mengubahnya ke bentuk lebih stabil. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan pengubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil.

Menurut Rajalakshmi (2000), eugenol memiliki aktivitas antioksidan yang efeknya sama dengan α -tokoferol dalam menghambat lipid peroksidasi, oksidasi LDL, dan lipoprotein berkepadatan sangat rendah (VLDL). Kandungan biokimia yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi pada ekstrak etanol daun kemangi yang paling tinggi adalah eugenol tetapi eugenol sendiri berbentuk minyak atsiri (Rao and Kumari 2014). Efek antiinflamasi dari kandungan eugenol dapat bekerja dengan menghambat aktivitas PGH sintase karena berkompetisi dengan asam arakhidonat pada sisi aktif PGH sintase sehingga menghambat pembentukan PG (Thompson and Eling, 2009). Pada penelitian ini komponen biokimia lain yang turut berperan sebagai antiinflamasi dan antioksidan adalah flavonoid dan tanin.

Flavonoid sebagai antioksidan (menekan jumlah radikal bebas) dapat menangkap radikal bebas dengan melepaskan atom hidrogen dari gugus hidroksilnya sehingga radikal bebas menjadi stabil. Radikal bebas yang stabil tidak merusak lipida, protein dan DNA yang menjadi target kerusakan sel (Priyambodo dan Ari, 2010). Fungsi flavonoid sebagai antiinflamasi bekerja dengan Mekanisme flavonoid dalam menghambat terjadinya inflamasi yaitu pada konsentrasi tinggi dapat menghambat pelepasan asam arakidonat dan sekresi enzim lisosom dari membran dengan

memblok jalur siklooksigenase, jalur lipoksigenase, dan fosfolipase A₂, sementara konsentrasi rendah hanya memblok jalur lipoksigenase. Fungsi tanin sebagai antioksidan memiliki kemampuan dalam menghentikan reaksi rantai radikal bebas secara efisien (Abdelmoaty, 2010).

Pemberian tingkatan tinggi dosis terhadap hewan coba mencit model glomerulonefritis akut (GNA) efektifitas ekstrak daun kemangu semakin mengalami penurunan efektifitas sebagai antioksidan. Menurut Gordon (2003) besar konsentrasi antioksidan (AH) yang berikan dapat berpengaruh pada laju oksidasi. Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Gambar 5.1) yang terlihat pada reaksi berikut :



Gambar 5.1. Antioksidan Bertindak Sebagai Prooksidan Pada Konsentrasi Tinggi (Gordon, 2003)

Penjelasan tentang efektifitas pada dosis rendah ini juga diperkuat menurut Silva, (2013) yang menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) yang mengandung senyawa bioaktif menunjukkan aktivitas antiinflamasi dan antimikroba secara kuat pada dosis dan konsentrasi rendah.

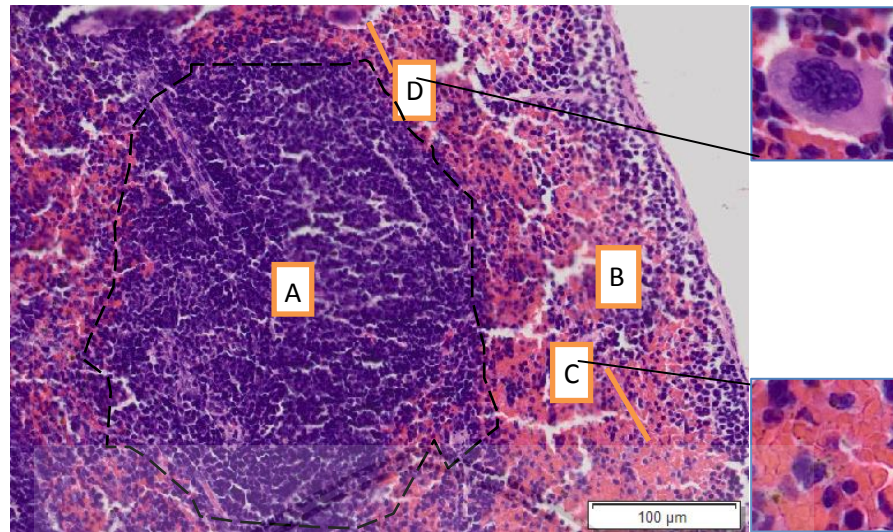
5.3 Histopatologi Organ Limpa Mencit Model Glomerulonefritis Akut (GNA) Setelah Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum Gratissimum* L.)

Pengamatan histopatologi organ limpa dilakukan dengan mengamati preparat pada perbesaran 320x. Bagian yang diamati adalah parenkim (pulpa limpa) serta menghitung jumlah kenaikan atau penurunan infiltrasi giant cell serta sebaran sel-sel limfosit pada histopatologi limpa. Berikut ini adalah hasil perhitungan presentase kenaikan atau penurunan infiltrasi giant cell pada limpa.

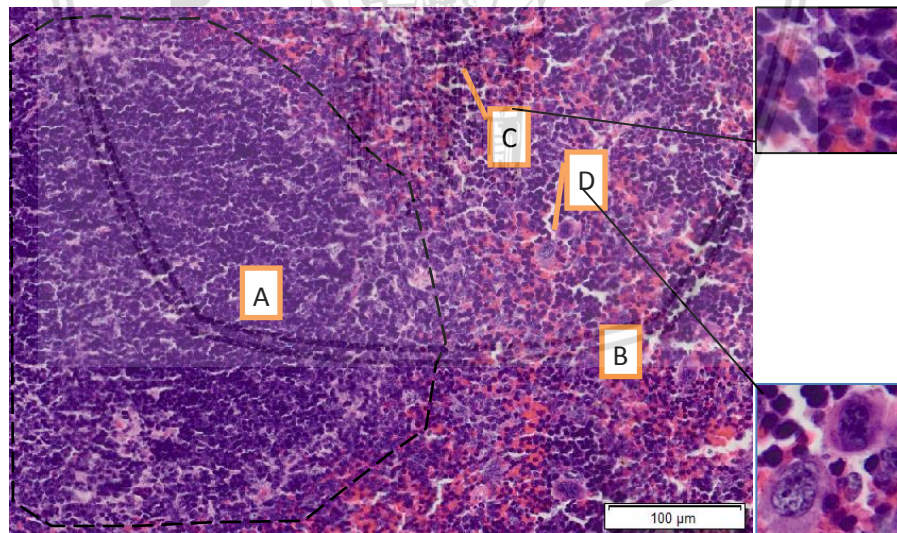
Tabel 5.3. Persentase Perubahan Rataan Jumlah infiltrasi giant cell

Kelompok	Rataan Jumlah Giant cell \pm SD
Kontrol negatif	2,4 \pm 0,163
Kontrol positif	8,75 \pm 0,341
Terapi 1 400 mg/kg BB	4,6 \pm 0,489
Terapi 2 800 mg/kg BB	7,35 \pm 0,191
Terapi 3 1200 mg/kg BB	8,2 \pm 0,326

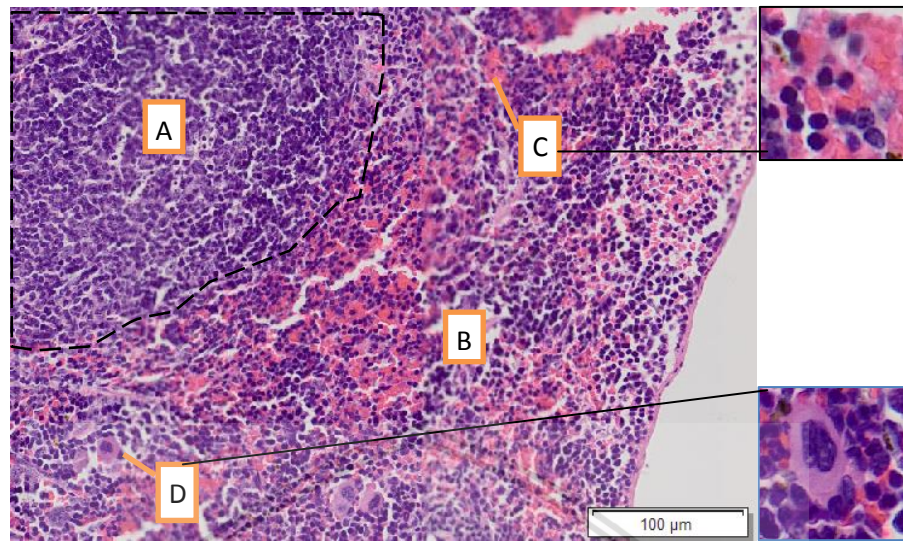
Perhitungan jumlah sel radang yang terlihat pada histopatologi limpa objek sel yang dihitung adalah Giant Cells. Metode penghitungan dengan melakukan pengamatan pada lima bidang pandang yang berbeda pada masing-masing sampel dan menghitung rata-rata jumlah selnya (lampiran 14). Gambaran histopatologi limpa mencit dapat diamati pada 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan Kelompok terapi 1, kelompok terapi 2 serta kelompok terapi 3. Gambaran histopatologi limpa dapat dilihat sebagai berikut.



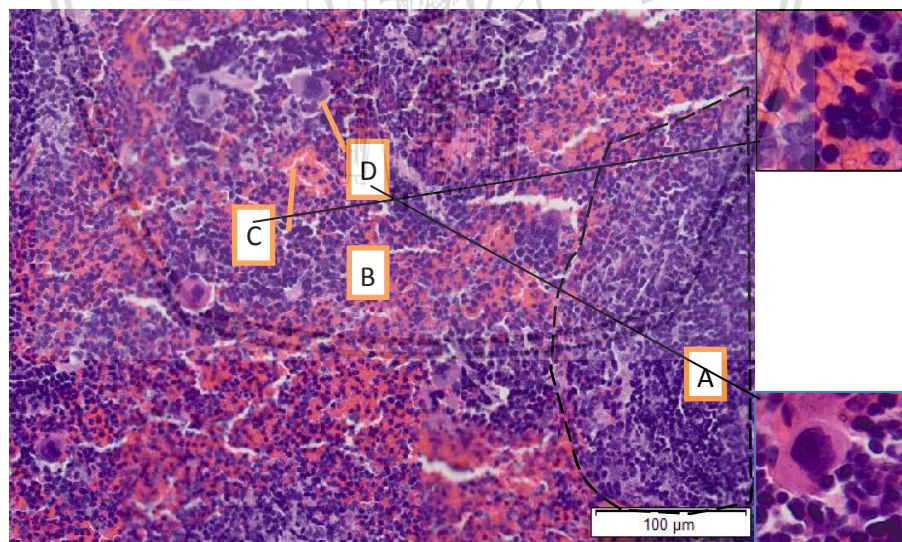
Gambar 5.2 Histopatologi limpa kontrol negatif perbesaran 320x.
Keterangan : (A) Pulpa Putih, (B) Pulpa Merah, (C) limfosit, 1200x (D) Giant Cells, 1200x. Pada pulpa merah didominasi oleh eritrosit, namun sedikit sel limfosit



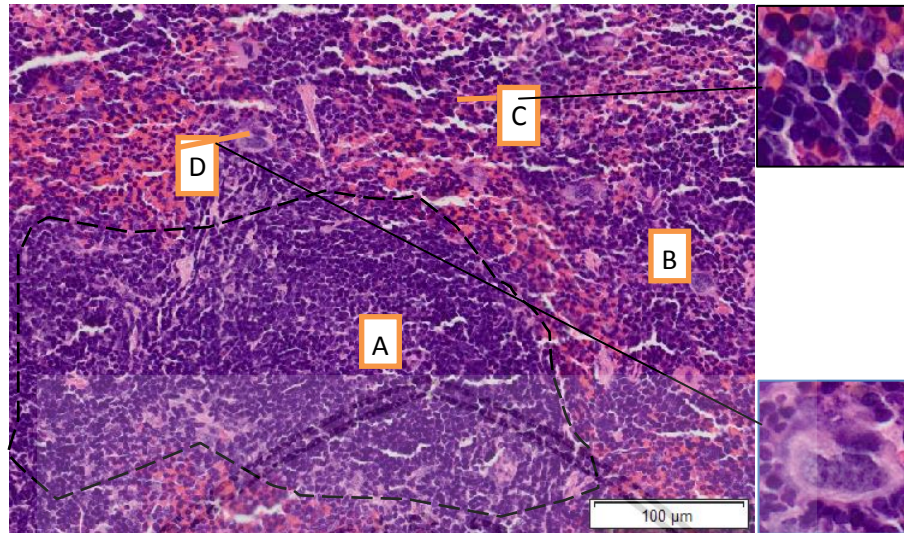
Gambar 5.3 Histopatologi limpa kontrol positif perbesaran 320x.
Keterangan : (A) Pulpa Putih, (B) Pulpa Merah, (C) limfosit, 1200x (D) Giant Cells, 1200x. Pada pulpa merah banyak ditemukan infiltrasi sel limfosit.



Gambar 5.4 Histopatologi limpa terapi 1 dosis 400 mg/kgBB perbesaran 320x. Keterangan : (A) Pulpa Putih, (B) Pulpa Merah, (C) limfosit, 1200x (D) Giant Cells, 1200x. Pada pulpa merah penurunan infiltrasi sel limfosit.



Gambar 5.5 Histopatologi limpa terapi 2 dosis 800 mg/kgBB perbesaran 320x. Keterangan : (A) Pulpa Putih, (B) Pulpa Merah, (C) limfosit, 1200x (D) Giant Cells, 1200x. Pada pulpa merah banyak ditemukan infiltrasi sel limfosit..



Gambar 5.6 Histopatologi limpa terapi 3 dosis 1200 mg/kgBB perbesaran 320x. Keterangan : (A) Pulpa Putih, (B) Pulpa Merah, (C) limfosit, 1200x (D) Giant Cells, 1200x. Pada pulpa merah banyak ditemukan infiltrasi sel limfosit..

Secara histologis limpa terdiri dari stoma (kapsula dan trabekula) dan parenkim (pulpa limpa). Ross and Pawlina, (2011) menerangkan bahwa Diantara trabekula terdapat anyaman serat retikulin yang menunjang parenkim limpa. Parenkim limpa terdiri dari dua bagian yaitu pulpa merah dan pulpa putih. Fungsi limfatik limpa dijalankan oleh pulpa putih. Pulpa putih terdiri atas 3 subkompartemen yaitu periarteriol lymphoid sheath (PALS), folikel, dan zona marginal.

Gambaran histopatologi limpa pada kelompok kontrol negatif dan kontrol positif terlihat perbedaannya seperti sebaran sel limfosit yang seharusnya secara normal berkumpul pada pulpa putih. Menurut Cesta, (2006) bahwa pulpa putih disusun oleh limfosit, makrofag, sel dendritik, sel plasma, arteriol, dan kapiler dalam jaringan retikular. Pulpa merah merupakan filter darah yang mengeliminasi material asing dan berbahaya

serta eritrosit yang sudah tua (Krieken and Orazi, 2007). Terlihat juga giant cell pada kelompok kontrol negatif ini. Giant Cells merupakan sel berasal yang dari fusi monosit atau makrofag. Giant cell memiliki fungsi dalam sistem imun sangat penting untuk mengendalikan serangan patogen dan berperan dalam reaksi inflamasi yang diatur erat dalam respon multiselular tubuh. Jumlah infiltrasi sel Giant Cells yang terlihat pada histopatologi limpa kelompok ini dengan rata-rata 2,4. Hal ini normal terjadi karena menurut Johnathan, (2011) bahwa giant cell dapat ditemukan didalam tubuh baik dalam keadaan fisiologis dan patologis. Peran fisiologis giant cell pada innate immunity meliputi remodeling granuloma terkait matriks ekstraseluler dan pembersihan partikel asing dari jaringan. Selanjutnya, giant cell juga berperan dalam pembersihan debris sel apoptosis.

Gambaran histopatologi limpa pada kelompok kontrol positif berbeda apabila dengan kontrol negatif sel-sel limfosit sangat banyak berpindah keluar dari pulpa putih untuk memenuhi zona pada pulpa merah dan membentuk kumpulan-kumpulan baru. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat reaksi inflamasi pada zona pulpa merah ini. Peningkatan jumlah infiltrasi sel radang lain seperti giant cells juga terlihat tersebar pada pulpa merah pada histopatologi limpa. Giant Cells merupakan sel berasal yang dari fusi monosit atau makrofag dan berkembang selama berbagai reaksi inflamasi (Milde, *et al.*, 2015). Peningkatan ini terjadi karena adanya kompleks imun streptokinase sebagai antigen yang diikat antibodi tubuh berada bebas didalam sirkulasi darah, sehingga akan diikat dan diangkut oleh eritrosit untuk dimusnahkan di limpa. Pulpa merah sebagai tempat destruksi filter

darah yang mengeliminasi material asing dan berbahaya serta eritrosit yang berikatan dengan kompleks imun. Sehingga jumlah giant cell meningkat untuk mengeliminasi material tersebut dengan fagositosis. Peningkatan ini juga sebanding dengan perhitungan jumlah sel dengan menggunakan metode pengamatan lima lapang pandang dengan kenaikan infiltrasi giant cell dibandingkan kontrol negatif.

Menurut Suttie (2006), perubahan patologi yang terjadi pada limpa dianggap berkenaan dengan trabekula, sinus pada pulpa merah dan pulpa putih, terutama pada kandungan darah, gambaran fibrosa, jumlah sel dan deposit lain. Glomerulonefritis akut ditandai dengan peningkatan sitokin pro-inflamasi, aktivator kaskade komplemen disamping juga neutrofil merupakan salah satu contoh dari respon inflamasi sistemik. Respon yang berlebih ini dapat menjadikan salah satu penyebab dari kerusakan endotel dan berakibat kerusakan organ. Salah satu organ yang mengalami kerusakan yaitu limpa, karena limpa memiliki fungsi sebagai pertahanan tubuh. Menurut Baratawidjaja dan Rengganis (2010) dalam keadaan normal, kompleks imun dalam sirkulasi akan diikat dan diangkut oleh eritrosit ke hati, limpa dan di sana dimusnahkan oleh sel fagosit mononuklear, terutama di hati, limpa dan paru.

Menurut Hahn (2005), bahwa setelah terbentuk kompleks imun di sirkulasi atau jaringan, bila komplemen terlibat, maka komplemen akan melepaskan anafilaktosin sebagai produk C3 dan C5, lalu akan menyebabkan pelepasan mediator dari sel mast dengan perubahan permeabilitas pembuluh darah. Faktor kemotaktik yang juga dihasilkan,

akan menyebabkan PMN berdatangan dan terjadi fagositosis kompleks imun. Enzim proteolitik (termasuk proteinase netral dan kolagenase), enzim pembentuk kinin, protein dan polikation, oksigen reaktif, dan nitrogen antara yang dilepaskan akan menyebabkan kerusakan pada jaringan lokal dan meningkatkan respon peradangan.

Pengamatan histopatologi limpa pada kelompok terapi 1 yaitu kelompok yang diterapi dengan ekstrak etanol daun kemangi 400 mg/kg BB, menunjukan adanya perbaikan penurunan kumpulan penyebaran sel-sel limfosit pada zona pulpa merah jika dibandingkan dengan kontrol positif. Penurunan jumlah infiltrasi giant cells lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Perbedaan gambaran histopatologi dari kelompok terapi 1 dengan kontrol positif ini dapat disebabkan pemberian ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) adanya kandungan flavonoid, eugenol dan tanin yang terdapat pada ekstrak daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*). Ketiga kandungan biokimia ini diketahui memiliki kemampuan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Liu *et.al.*, 2011).

Ekstrak etanol dari daun kemangi dapat menghambat inflamasi akut maupun kronik dan memiliki potensi sebagai antioksidan (Vats, *et al.*, 2004). Pattanayak, *et al.*, (2010) menyebutkan flavonoid bekerja sebagai antiinflamasi dengan cara mengurangi aktivasi komplemen sehingga akumulasi leukosit ke endotel dapat dihambat sehingga respon inflamasi berkurang. Efek antiinflamasi eugenol dan tanin menghambat kerusakan sel melalui aktivitas penghambatan enzim siklooksigenase yaitu siklooksigenase-2 (COX-2). Eugenol bekerja dengan menghambat

pembentukan prostaglandin pada jalur COX-2. Hal ini juga diperkuat oleh Srivastava, (2003) bahwa eugenol dapat menghambat agregasi platelet dengan cara menghambat pembentukan tromboksan sehingga juga berperan dalam efek antiinflamasi.

Gambaran histopatologi dari kelompok terapi 2 dengan diterapi ekstrak etanol daun kemangi 800 mg/kg BB menunjukkan kerusakan yang lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok terapi 1. Terlihat gambaran histopatologi penyebaran kumpulan sel-sel limfosit pada pulpa merah masih terlihat besar dan mengisi ruang-ruang pada zona pulpa merah. Bentuk kumpulan sel-sel limfosit ini menunjukkan masih tingginya tingkat peradangan pada daerah tersebut. Infiltrasi giant cells juga masih banyak terlihat pada histopatologi limpa. Penurunan presentase semakin rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif. Pengamatan pada kelompok terapi 3 gambaran histopatologi limpa semakin menunjukkan kerusakan yang lebih besar juga jika dibandingkan dengan kelompok terapi 1. Penyebaran sel-sel limfosit terlihat dengan jelas mengisi zona pulpa merah dengan mengumpul dan memenuhinya serta tampak infiltrasi sel radang seperti Giant Cells yang masih banyak terlihat. Penurunan presentase semakin rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif.

Gambaran histopatologi limpa dari kelompok terapi 2 dan terapi 3 yang menunjukkan adanya kerusakan yang lebih besar dibandingkan dengan kelompok terapi 1 hal ini mungkin disebabkan karena aktivitas antiinflamasi dan antioksidan yang mulai menurun. Menurut Azizah (2009) bahwa pemberian terapi yang memiliki efek antiinflamasi pada dosis

rendah akan mengurangi respon inflamasi sistemik, menghambat produksi sitokin proinflamasi, mediator – mediator inflamasi, dan menurunkan adhesi leukosit ke endotel. Selain itu, pemberian terapi antiinflamasi dosis rendah yaitu untuk menekan atau mengurangi efek sitokin, terutama sitokin proinflamasi sehingga terjadi keseimbangan antara sitokin proinflamasi dengan antiinflamasi. Hal ini juga diperkuat oleh pendapat Pattanayak *et al.*, (2010) pada penelitiannya mengenai daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) sebagai antiinflamasi bahwa dosis rendah dari ekstrak etanol daun kemangi diketahui lebih efektif daripada dosis yang lebih tinggi.



BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) memiliki kandungan antioksidan dan antiinflamasi dapat digunakan sebagai salah satu terapi terhadap mencit model GNA hasil induksi streptokinase berdasarkan penurunan kadar MDA ginjal dan perbaikan histopatologi organ limpa.

6.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis minimum ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) sebagai terapi glomerulonefritis akut.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis toksik dan efek toksik dari ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum gratissimum L.*) yang memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmoaty, M.A., M.A. Ibrahim, N.S. Ahmed, and M.A. Abdelaziz. 2010. Confirmatory Studies on the Antioxidant and Antidiabetic Effect of Quercetin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*; 25: 188-192.
- Alpers, A. 2006. Buku Ajar Pediatri Rudolph. Edisi 20. Jakarta: EGC.
- Ananjan, Chatterjee and Humaira, Nazir. 2015. Giant Cell Formation - A Review. *Journal of Dental and Medical Sciences*; 14(10): 98-101
- Aughey, E and Frye, F.L. 2001. Comparative Veterinary Histology with Clinical Correlates. London: Iowa State University Press.
- Azizah, N. 2009. Pengaruh Kortikosteroid Dosis Rendah Terhadap Hitung Limfosit di Lien Mencit BALB/C Model Sepsis Paparan Lipopolisakarida [Skripsi]. Fakultas Kedokteran. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Baratawidjaja, K. G. Dan I. Rengganis. 2010. Imunologi Dasar: Edisi ke-9. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Basak, P., Mallick, P., Mazumder, S., and Verma, AS. 2014. Assessment of Antioxidant, Anti-Inflammatory, Anti-Cholinesterase and Cytotoxic Activities of Tulsi (*Ocimum gratissimum*) Leaves. *International Journal for Pharmaceutical Research Scholars (IJPRS)*; 3: 762-771.
- Bracco U, Jardine NJ. 2007. Oxidants, Antioxidants, and Disease Prevention. Belgium: International Life Science Institute
- Brown, S.C. 2013. Glomerular Disease In Small Animals; Noninfectious Diseases Of The Urinary System In Small Animals. Review October 2013.
- Cesta MF. 2006. Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicol Pathol*; 34: 455-465
- Clarkson, P. M., Thompson, H. S. 2000, Antioxidants: what role do they play in physical activity and health, *J. Clin Nutr. Biochem*, 72.: 637S-46S.
- Cook, A. K. and Cowgill, L. D. 2000. Clinical and pathologic features of protein losing glomerular disease in the dog: a review of 137 cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*; 32: 313-322.
- Cotran, R. S. , V. Kumar , and T. Collins . 2004. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease, Seventh Edition. Philadelphia: WB Saunders.
- Coppo, Rosanna., Chen, N., Weening, Jj., Wang, W., And Remuzzi, G. 2004. New Insights Into Glomerulonephritis: Pathogenesis And Treatment. Switzerland: Bosch Druck

- David, E. Golan., Armen, H. T., Armstrong, Ehrin and April, W. 2008. Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy Second Edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins
- Dahlan, M Sopiudin. 2011. Statistik Untuk Kedokteran dan Kesehatan. Jakarta: Salemba Medika.
- De Renzo EC, Siiteri PK, Hutchings BL, Bell PH. 2001. Preparation And Certain Properties Of Highly Purified Streptokinase. *J Biol Chem*; 242: 523 – 532.
- Djuwita, Efriyani. 2008. Mengenal Lebih Dekat Selasih: Tanaman Keramat Multimanfaat. Tangerang: AgroMedia Pustaka.
- Donnan, G. A., Davis, S. M., Chambers, B. R., Gates, P. C., Hankey, G. J., McNeil, J. JTuck, R. R. 2006. Streptokinase For Acute Ischemic Stroke With Relationship To Time Of Administration. *Jama*; 276: 961-966
- Donne D, Isabella, Rossi, Ranieri, Colombo, and Roberto. 2006. Biomarker Of Oxidative Damaged In Human Disease. *Clinical Chemistry*; 52 : 1 – 23.
- Erich, Horst and Hans, George. 2007. Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas. Munich: Schattauer GmbH
- Eroschenko, Victor P. 2013. DiFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins
- Evans., et al. 2002. Oxidative Stress: A Unifying Hypothesis of Diabetes. *Endocrine Review*. 23(5): 599-622.
- Gautam, M.K. and R.K. Goel. 2014. Toxicological Study Of Ocimum Sanctum Linn Leaves: Hematological, Biochemical, And Histopathological Studies. *Journal of toxicology*; 2: 14 - 22
- Gennaro, A.R. 2002. Remington : The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition. New York ; Lippincott Wiliams and Wilkins.
- Gerber M.A. 2004. *Group A Streptococcus*. Dalam: Behrman, R.E., R.M. Kliegman, H.B. H.B. Jenson. Nelson Textbook of pediatrics. Edisi-17. Philadelphia: saunders.
- Gordon, M.H. 2003. The Mechanism of Antioxidants Action In Vitro. In B.J.F. Hudson, editor. London: Elviesier Applied Science.
- Grassi D, Desideri G, and Ferri C. 2010. Flavonoid: Antioxidants Against Atherosclerosis. *Nutrients*; 2: 889-902.
- Guyton, AC, and Hall JE. 2006. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11. Penerjemah: Irawati, Ramadani D, Indriyani F. Jakarta: EGC

- Hadipoentyanti, Endang dan Wahyuni, Sri. 2008. Keragaman Selasih (*Ocimum Spp.*) Berdasarkan Karakter Morfologi, Produksi Dan Mutu Herba. *Jurnal Littri*; 14: 141 – 148
- Hahn BH. 2005. Immune-complex diseases. *Harrisons principles of internal medicine*. 16th Edition. New York: Mc Graw Hill, Inc
- Harborne, JB. 2006. Metode fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Bandung: ITB
- Haryani, A., Grandiosa, R., Buwono, I., dan Santika, A. 2012. Uji Efektivitas Daun Papaya Untuk Pengobatan Infeksi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Pada Ikan Mas Koki. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*; 3: 215-221
- Hilmanto, D. 2009. Pengobatan Glomerulonefritis. *Sari Pediatri*, 9; 1-14.
- Janero, D.R. 2001. Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid Activity as Diagnosis Indices of Lipid Peroxidation and Peroxidative Tissues Injury. *Free Radical Biology & Medicine*; 9: 515-524.
- Jann, Hau., Steven J. Schapiro. 2011. Handbook of Laboratory Animal Science, Volume I, Third Edition: Essential Principles and Practice. New York: Taylor and Francis Group
- Jeyabalan, A., Caritis, S. N. 2006. Antioxidant and The Prevention of Preeclampsia-Unresolved Issues. *New England J Med*; 354: 1841-1846.
- Johnathan, Bartee I. 2011. The Cell Biology of Multi-nucleated Giant Cell Formation. *Curr Opin Hematol*; 16(1): 53–57.
- Jusuf, Aulia Ahmad. 2009. Histoteknik Dasar Bagian Histologi. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Kapewangolo, Petrina., Justin, J Omolo., Ronel, Bruwer., Pascaline, Fonteh and Debra, Meyer. 2015. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Ocimum Gratissimum* Extract and Isolated Labdanedi Terpenoid. *Journal of Inflammation*; 12: 1-13.
- Kim, O.S. 2005. Radical Scavenging Capacity and Antioxidants Activity of The E Vitamin Fraction in Rice Bran. *J. Food Science*; 70: 208-213
- Krieken JHJM, Orazi A. 2007. Spleen. In: *Histopathology for Pathologist*. Ed ke-3. Philadelphia (US): Williams & Wilkins.
- Kusumawati, D. 2004. Bersahabat Dengan Hewan Coba. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Kusriningrum. 2008. Rancangan Percobaan. Surabaya: Airlangga University Press.

- Ledgard, Jared. 2006. Kings Chem Guide: Edition 2. USA: UvkChem.
- Liu, J.Y., Wang, W.H., Chen, Y.H., Chiu, Y.W., Shyu, J.C., Tsai, Hsuesh, L.H., Hung, C.C and Hwang, J.M. 2011. Protective Effects of *Ocimum gratissimum* Polyphenol Extract on CarbonTetrachloride-Induced Liver Fibrosis in Rats. *Chinese Journal of Physiology*; 58: 1-9
- Llurba, E., Grataco, E., Galla, M.P., Caberol, Dominguez, C., 2004. A Comprehensive Study of Oxidative Stress and Antioxidant Status in Preeclamsia and Normal Pregnancy. *Free Radical Biology & Medicine*; 37: 557-570.
- Luczaj, W., and E. Skrzydlewska. 2003. DNA damage caused by lipid proxidation products. *Cell Mol. Biol. Lett*; 8 :391-413
- Macdougall, D. F., Cook, T., Steward, A. P. and Cattell, V. 2008. Canine Chronic Renal Disease: Prevalence And Types of Glomerulonephritis In The Dog. *Journal of Kidney International*; 29: 1144-1151.
- Madaio MP, Harrington JT. 2001. The Diagnosis Of Glomerular Diseases: Acute Glomerulonephritis And The Nephrotic Syndrome. *Arch Intern Med*;161(1) :25-34.
- Marks, Dawn B., Allan, D., and Smith, Collen. 2000. Biokimia Kedokteran Dasar. Jakarta: EGC
- Maxie, M. Grant and Newman, S.J. 2007. The Urinary System. In: Pathology of Domestic Animals. 5th Ed.; Jubb, K.V.F.; Kennedy, P.C. & Palmer, N.; Edinburgh: Elsevier Saunders.
- Mayer, Welsh and Kowalak. 2011. Buku Ajar Patofisiologi. EGC: Jakarta.
- Mayer, Jhon. 2008. Biomarker of free radical damage. Application in experimental animals and humans. *Free Rad Biol Med*; 26: 202-226
- McBride, J.M. and Kraemer, W.J. 2009. Free Radical, Exercise, and Antioxidants. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 13(2): 175-183.
- Mescher, Anthony. 2010. Junqueira's Basic Histology, 12th Edition: Text and Atlas. USA:The McGraw-Hill
- Mishra P, Mishra S. 2007. Study Of Antibacterial Activity Of *Ocimum gratissimum* Extract Against Gram Positive And Gram Negative Bacteria. *American Journal of Food Technology* 6 (4): 336 – 341.
- Milde, Ronny., Ritter, Julia., Glenys, A., Tennent,. 2015. Multinucleated Giant Cells Are Specialized for Complement-Mediated Phagocytosis and Large Target Destruction. *J Cell Rep*; 13(9): 1937–1948.

- Moussa, S.A. 2008. Oxidative Stress In Diabetes Mellitus. *Romanian J. Biophys.* 18 (3): 225-236.
- Muntiha, Mohamad. 2001. Teknik Pembuatan Preparat histopatologi Dari Jaringan Hewan dengan Pewarnaan Hematoksin dan Eosin (H&E). Bogor. Temu Teknis Fungsional
- Muliani, H. 2011. Pertumbuhan Mencit (Mus Musculus) Setelah Pemberian Biji Jarak Pagar (*Jatropha Curcas*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi* Vol. XIX No. 1.
- Murwani, Sri., Christiyane, G., Primaden, A.k., Monteiro, L.Z.G., Ramadhani, M.R dan Ahmad, H.M. 2014. Hewan Model Glomerulonefritis Akut (Hipersensitif Type III). Universitas Brawijaya, Malang.
- Naibaho O, Paulina V, Yamlean, Wiyono W. 2013. Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum* L.) Pada Kulit Punggung Kelinci Yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus Aureus*. *Journal Ilmiah Farmasi* ;2(2): 28.
- Nelson. 2000. Ilmu Kesehatan vol 3 Ed 15: Glomerulonefritis akut Pasca Streptokokus. Jakarta: EGC
- Noer, MS. 2002. Patofisiologi Kedokteran. Surabaya: Gramik FK Universitas
- Nordstrand, A., McShan, W.M., Ferretti, J.J., Holm, S.E., and Norgren, M. 2000. Allele Substitution of the Streptokinase Gene Reduces the Nephritogenic Capacity of Group A Streptococcal Strain NZ131. *J Infect Immun* 68; 1019-1025.
- Nordsrand, A., M. Norgren., J.J. Ferretti and S.E. Holm. 1998. Streptokinase as a Mediator of Acute Post-Streptococcal Glomerulonephritis in an Experimental Mice Model. *Infect. Immun.*; 66: 315-321
- Novianalie, O. 2010. Daya Hambat Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum Sanctum*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Plak Gigi. *Jurnal Periodonsia* ; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Okaiyeto, SO., Kaltungo, BY., Onoja, II., and Okoro, LK. 2013. A Case Of Glomerulonephritis In A 4-Year-Old Kano Brown Doe. *J Vet Advances*, 3(9) : 256-260.
- Pardede, S.O. 2009. Struktur Sel Streptokokus dan Patogenesis Glomerulonefritis Akut Pascastreptokokus. Jakarta: Departemen Ilmu Kesehatan Anak FKUI-RSCM.
- Pattanayak, P., P. Behera, D. Das, and S. K. Panda. 2010. *Ocimum gratissimum* Linn A Reservoir Plant for Therapeutic Applications: An Overview. *Journal Pharmacogn Rev*, 4(7) : 95-105.

- Petroianu, Andy. 2011. *The Spleen*. Pampulha: Bentham Science
- Powers, Scott K. and Malcolm J. Jackson. 2008. Exercise-Induced Oxidative Stress: Cellular Mechanisms And Impact On Muscle Force Production. *Physiol Rev*. 88(4): 1243–1276.
- Prabhu, K.S., Lobo, R., Shirwaikar, A.A and Shirwaikar, A. 2009. Ocimum gratissimum: A Review of its Chemical, Pharmacological and Ethnomedicinal Properties. *The Open Complementary Medicine Journa.*; 1: 1-15
- Prapti. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat:431 Tanaman Penggempur Aneka Penyakit*. Tangerang: AgroMedia Pustaka.
- Priyambodo, W.C dan Y. Ari. 2010. Efektifitas Ekstrak Daun Kemangi Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Hiperglikemia. Semarang : Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang.
- Raimo, Hiltunen and Yvonne, Holm. 2005. *Basil: The Genus Ocimum*. Amsterdam: Harwood Publishers
- Rajalakshmi K, Gurumurthi P, Devaraj SN. 2000. Effect of eugenol and tincture of craraegus (tcr) on in vitro oxidation of LDL + VLDL isolated from plasma of non insulin dependent diabetic patients. *Indiana J Exp Biol* 38:509-511
- Rao, N.B. and O.S. Kumari. 2014. Phytochemical Analysis of Ocimum gratissimum L. (Clove Tulasi) Leaf Extract. *An International Journal of Advances in Pharmaceutical Science*, 5(6) : 2532 – 2535.
- Rameshrad, Maryam., Ronak, Salehian., Fatemeh, Fathiazad., Sanaz, Hamedeyazdan., Mehraveh, Garjani., Nasrin, Maleki., and Reza, Vosooghi. 2015. The Effects of Ocimum Gratissimum Ethanol Extract on Carrageenan Induced Paw Inflammation in Rats. *J Pharmaceutical Sciences*,; 20: 149-156.
- Rodriguez B, Mezzano S. 2009. *Acute Postinfectious Glomerulonephritis*. Dalam: Avner ED, Harmon WE, Niaudet P, Yashikawa N, penyunting. *Pediatric nephrology*. edisi ke-6. Berlin: Springer
- Rosai, J. 2004. *Ackerman's Surgical Pathology*. Vol 2. 9th ed. St Louis: Mosby-Year Book Inc.
- Ross MH, Pawlina W. 2011. *Histology: A Text and Atlas*. Ed ke-6. Philadelphia (US): Williams & Wilkins
- Rouse, B. T. and Lewis, R. J. 2005. Canine Glomerulonephritis: Prevalence In Dogs Submitted at Random for Euthanasia. *Canadian Journal of Comparative Medicine*; 39: 365-370.

- Sabir A. 2003. Pemanfaatan Flavonoid Di Bidang Kedokteran Gigi. *Maj Ked Gigi (Dental Journal)*. Edisi Khusus Temu Ilmiah Nasional III 7: 81–89.
- Sahouo, G. Bedi., Z.F. Tonzibo¹., B. Boti., C. Chopard²., J.P. Mahyo and Yao T. 2003 . Anti-Inflammatory And Analgesic Activities: Chemical Constituents Of Essential Oils Of Ocimum Gratissimum, Eucalyptus Citriodora And Cymbopogon Giganteus Inhibited Lipoxxygenase L-1 And Cyclooxygenase Of Pghs. *Bull. Chem. Soc. Ethiop*; 17(2): 191-197.
- Samkhan dan Niati, Sri. 2006. Tata Cara Penanganan Dan Pengirimam Contoh ke Laboratorium. *Bultin Laboratorium Veteriner*:: 6 No:3.
- Sangeetha, P And Poornamathy, J. Juliet. 2015. Invitro Assessment of Antiinflammatory Activity of Ocimum Gratissimum (*Karunthulasi Leaves*). *Int J Pharm Bio Sci*; 6(2): 1387 - 1391.
- Seidemann, Johannnes. 2005. World Sipce Plants Economic Usage, Botany, Taxonomy. Postdam: Springer Science
- Sherene M, Shenouda, and Vita JA. 2007. Effect of Flavonoid Containing Beverages and EGCC on Endothelial Function. *Journal of the American College of Nutrition*. 26(4): 366-372.
- Silva, F. L., Braga, L. K. A., Macedo, A. K. C., Cunha, A. A.and Santoz, F. A. V. 2013. Potentiation of In Vitro Activity by Ocimum gratissimum L., *African Journal of Pharmacy And Pharmacology*, 5 (19), 2145-2149.
- Smith, J.B., Mangkoewidjojo, S. 1998. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Tikus Laboratorium (*Rattus norvegicus*). Jakarta :Penerbit Universitas Indonesia.
- Srivastava, K. C. 2003. Antiplatelet Principles From A Food Spice Clove (*Syzygium Aromaticum L.*). Prostaglandins Leukotrienes Essential Fatty Acids. 48 (5): 363-372.
- Stevens, L.A. and Levey, A.S. 2004. Clinical Implications for Estimating Equations For Glomerular Filtration Rate, *Ann. Intern. Med*, 141: 959-961
- Subowo. 2010. Imunologi Klinik: Hipersensitivitas. Edisi ke-2. Jakarta: Sagung Seto
- Sudarsono, G.D., S. Wahyuono, I.A. Danatus, dan Purnomo. 2002. Tumbuhan Obat II. Yogyakarta: Pusat Studi Obat Tradidional
- Sumono, A dan Wulan, A. 2008. The Use Of Bay Leaf (*Eugenia Polyantha Wight*) In Dentistry. *Dental Jurnal* ; 41(3): 18-25.
- Sutari, Tassa Vara., Sugito., Aliza, Dwinna., dan asmiranda. 2013. Kadar Malondialdehid (Mda) Pada Jaringan Hati Ikan nila (*Oreochromis*

Niloticus) Yang Diberi Cekaman Panasdan Pakan Suplementasi Tepung Daun Jaloh (*Salix Tetrasperma Roxb*). *Jurnal Medika Veterinaria.*; 7: 1-11

- Suttie AW. 2006. Histopathology of the spleen. *Toxicol Pathol.* 34: 466-503
- Tatjana, Cvetkovic., Branka, Mitic., Tatjana, Jevtovic., Dusan, Sokolovic., and Jelena Basic. 2007. Lipid Peroxidation And Total SH Group in Patients With Different Forms of Glomerulonephritis. *J Fac Med Naiss* 2007; 24 (3): 165-169.
- Tanko, Y., Yaro, A.H., Mohammed K.A and Mohammed, A. 2012. Anti-Nociceptive and Anti-Inflammatory Activities of Methanol Leaves Extract of *Ocimum Gratissimum* in Mice and Rats. *J Pharmacology*; 4 (5): 01-05.
- Thompson, D. and T. Eling. 2009. Mechanism Of Inhibition Of Prostaglandin H Synthase By Eugenol And Other Phenolic Peroxidase Substrates. *Molecular. J Pharmacology* 36(5): 809- 817.
- Vajpayee N., S.S. Graham, S. Bem. *Basic Examination Of Blood And Bone Marrow*. In: Henry's Clinical Diagnosis And Management By Laboratory Methods. 21st ed. Editor: McPherson RA, Pincus MR. China: Saunders Elsevier; 2006. hal. 9-20.
- Vats, V., Yadav, S. and Grover, J. 2004. Ethanolic extract of *Ocimum gratissimum* leaves partially attenuates streptozotocin-induced alterations in glycogen content and carbohydrate metabolism in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 90: 155-160.
- Zainuri, M. dan Wanandi, S.I. 2012. Aktivitas Spesifik Manganase Superoxide Dismutase (MnSOD) dan Katalase pada Hati Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik: Hubungannya dengan Kerusakan Oksidatif. *Jurnal Media Litbang Kesehatan*, 22(2): 87-92.